

**Produksi Amilase Melalui Formulasi Substrat Limbah
Tapioka Padat dan Ampas Tahu oleh *Aspergillus niger* dan
*Neurospora crassa***

LAPORAN SKRIPSI

Oleh:

RIZKI WORO INDRAMUTI

125100601111024



**JURUSAN KETEKNIKAN PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**PRODUKSI AMILASE MELALUI FORMULASI SUBSTRAT
LIMBAH TAPIOKA PADAT DAN AMPAS TAHU OLEH
Aspergillus niger DAN *Neurospora crassa***

Oleh:

RIZKI WORO INDRASTUTI

125100601111024

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Teknologi Pertanian**



**JURUSAN KETEKNIKAN PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul TA : Produksi Amilase Melalui Formulasi Substrat
Limbah Tapioka Padat dan Ampas Tahu oleh *Aspergillus*
niger dan *Neurospora crassa*

Nama : Rizki Woro Indrastuti

NIM : 125100601111024

Jurusan : Keteknikan Pertanian minat Teknik Bioproses

Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA. Rini Yulianingsih, STP., MT.

NIP. 19610710 1986 01 1001

NIP. 1974 0717 2008 12 002

Tanggal Persetujuan:

Tanggal Persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Judul TA : Produksi Amilase Melalui Formulasi Substrat Limbah Tapioka Padat dan Ampas Tahu oleh *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*

Nama : Rizki Woro Indrastuti

NIM : 125100601111024

Jurusan : Keteknikan Pertanian minat Teknik Bioproses

Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA.

Rini Yulianingsih, STP., MT.

NIP. 19610710 1986 01 1001

NIP. 1974 0717 2008 12 002

Dosen Penguji,

Ketua jurusan,

Yusuf Hendrawan, STP, M. App.

Dr.Ir. J. Bambang Rahadi

Life Sc., Ph.D.

Widiatmono, MS.

NIP.19810516 200312 1 002

NIP. 19560205 198503 1 003

Tanggal Lulus TA :

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Rizki Woro Indrastuti. Penulis dilahirkan di Tangerang pada tanggal 7 Oktober 1994. Penulis merupakan putri terakhir dari 3 bersaudara pasangan Bapak Budi Supriyatno dan Ibu Rukoyah. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-kanak di TK Puspita Bunda pada tahun 2000. Kemudian penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN Larangan 10 Utara pada tahun 2006. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah Menengah Pertama di SMPN 11 Tangerang pada tahun 2009. Kemudian penulis juga melanjutkan pendidikan sekolah Menengah Akhir di SMAN 108 Jakarta pada tahun 2012.

Penulis pernah menjadi asisten praktikum pada mata kuliah Mikrobiologi Umum pada tahun 2015. Penulis juga pernah berkontribusi dalam Lembaga Eksekutif Mahasiswa bidang Kajian dan Strategi pada tahun 2015. Penulis pernah memperoleh juara dua dalam lomba karya tulis ilmiah tingkat fakultas pada tahun 2012. Penulis juga pernah memperoleh juara dua dalam lomba karya tulis tingkat universitas pada tahun 2012.

Alhamdulillahirabbil 'aalamiin

Karya kecil ini aku persembahkan untuk

Mama, Bapak, Mbak Reni, Mas Burhan,

Mbak Dian, Bimo, Bilqis dan

Indonesiaku.

PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rizki Woro Indrastuti

NIM : 125100601111024

Jurusan : Keteknikan Pertanian minat Teknik Bioproses

Fakultas : Teknologi Pertanian

Judul TA : Produksi Amilase Melalui Formulasi Substrat Limbah Tapioka Padat dan Ampas Tahu oleh *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*.

TA dengan judul diatas merupakan karya asli penulis. Apabila dikemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar saya bersedia dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, Mei 2016

Pembuat Pernyataan,

Rizki Woro Indrastuti

NIM. 125100601111024

RIZKI WORO INDRAMSTUTI. 125100601111024. Produksi Amilase Melalui Formulasi Substrat Limbah Tapioka Padat dan Ampas Tahu oleh *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*. Pembimbing: Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA, Rini Yulianingsih, STP., MT. dan Prof. Dr. I Made Sudiana, MSc.

RINGKASAN

Pada penelitian ini, *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa* digunakan dalam produksi enzim α -amilase pada media limbah tapioka padat dan ampas tahu dengan aktivitas enzim α -amilase sebagai parameter yang diuji. Masing-masing sampel difermentasi menggunakan metode *Solid State Fermentation* (SSF) pada suhu 30°C. Adapun persentase berat limbah tapioka padat pada media tanam adalah 0%, 25%, 50%, 75% dan 100% (w/w). Kemudian sampel-sampel ini diuji pada hari ke-3, ke-4 dan ke-5. Persentase berat limbah tapioka padat pada media tanam yang terbaik untuk masing-masing fungi, kemudian ditambahkan sumber nitrogen berupa urea ((NH₂)₂CO) dan amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄) dengan variasi konsentrasi 0%; 0,5% dan 1%. Kemudian hasil yang terbaik dari penambahan sumber nitrogen untuk masing-masing fungi, ditambahkan lagi dengan sumber karbon berupa manosa dengan variasi konsentrasi 0%; 0,05% dan 0,1%. Aktivitas amilase tertinggi untuk kedua fungi didapat pada hari ke-5. Nilai aktivitas tertinggi untuk *A. niger* yaitu 16,48 U/g pada 75% berat limbah tapioka padat yang ditambahkan dengan 0,5% amonium sulfat dan 0,05% manosa. Sedang aktivitas enzim amilase tertinggi yang dapat dihasilkan oleh *N. crassa* adalah 14,31 U/g pada 50% berat limbah tapioka padat yang ditambahkan dengan 0,5% urea dan 0,05% manosa.

Kata kunci: Aktivitas enzim α -amilase, *Aspergillus niger*, *Neurospora crassa*.

RIZKI WORO INDRASTUTI. 125100601111024. Cassava and Tofu Solid Waste as Substrate Formulation for Amylase Production by *Aspergillus niger* and *Neurospora crassa*. Supervisors: Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA, Rini Yulianingsih, STP., MT., Prof. Dr. I Made Sudiana, MSc.

SUMMARY

This research used *Aspergillus niger* and *Neurospora crassa* as α -amylase production in cassava solid and tofu waste as substrate with α -amylase enzyme activity as tested parameter. Each samples was fermented using Solid State Fermentation (SSF) method at temperature 30°C. The percentage weight of tapioca solid waste as fermentation substrate are 0%, 25%, 50%, 75% and 100% (w/w). Then samples was tested at 3rd, 4th and 5th days of fermentation. Then urea ((NH₂)₂CO) and ammonium sulfate ((NH₄)₂SO₄) with level of concentration 0%; 0,5% and 1%, as nitrogen source was added to the best percentage weight of tapioca solid waste for each fungi. Mannose with level of concentration 0%; 0,05% and 0,1% was added as carbon source to the best nitrogen concentration for each fungi. The highest α -amylase activity for each fungi was achieved at 5th day of fermentation. The highest α -amylase activity for *A. niger* was 16,48 U/g in 75% weight of cassava solid waste added by 0,5% ammonium sulfate and 0,05% mannose. While the highest α -amylase activity for *N. crassa* was 14,31 U/g in 50% weight of cassava solid waste added by 0,5% urea and 0,05% mannose.

Key word: *Aspergillus niger*, *Neurospora crassa*, α -amylase activity.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyang atas segala rahmat dan hidayah-Nya. Sehingga penyusun dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Produksi Amilase Melalui Formulasi Substrat Limbah Tapioka Padat dan Ampas Tahu oleh *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*”. Penyusunan TA ini merupakan salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Teknologi Pertanian.

Pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Mama, Bapak, Mbak Reni, Mas Burhan, Mbak Dian, Bimo dan Bilqis dan keluarga lainnya, yang telah memberikan doa, restu, cinta, semangat, motivasi serta dukungan dalam bentuk apapun.
2. Prof. Dr. I Made Sudiana, MSc., selaku pembimbing penelitian di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), yang telah membimbing, mendukung, serta senantiasa memberi saran dan masukan yang membangun selama penyusun melakukan penelitian.
3. Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA., selaku dosen pembimbing satu yang telah memberikan arahan dan masukan selama penyusunan laporan tugas akhir ini.
4. Rini Yulianingsih, STP., MT., selaku dosen pembimbing dua yang telah memberikan arahan, dukungan, motivasi dan masukan selama penyusunan laporan tugas akhir ini.

5. Yusuf Hendrawan, STP, M. App. Life Sc., Ph.D., selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan masukan selama penyusunan laporan tugas akhir ini.
6. Dr. Ir. Bambang Rahadi W., MS., selaku ketua Jurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.
7. Teman-teman selama penelitian di LIPI, Program Studi Teknik Bioproses dan Jurusan Keteknikan Pertanian 2012, yang telah memberikan semangat, motivasi, cinta dan dukungan selama penulis mengikuti perkuliahan, melakukan penelitian dan penyusunan tugas akhir ini.

Penyusun menyadari adanya keterbatasan pengetahuan, referensi dan pengalaman. Penyusun mengharapkan saran dan masukan untuk perbaikan tugas akhir ini. Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi penyusun dan semua pihak yang membutuhkan.

Malang, Juni 2016

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
RIWAYAT HIDUP	v
LEMBAR PERSEMBAHAN	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR	vii
RINGKASAN.....	viii
SUMMARY	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SIMBOL	xix
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
1.5 Batasan Masalah	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Aspergillus niger	6
2.2 Neurospora crassa.....	7
2.3 Ampas Tahu	9

2.4 Limbah Tapioka Padat	10
2.5 Solid State Fermentation (SSF)	11
2.6 Enzim Amilase	12
2.7 Sumber Karbon dan Sumber Nitrogen	16
BAB III. METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.3 Metode Penelitian	22
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	25
3.5 Pengamatan dan Analisa Data.....	31
3.6 Diagram Alir Penelitian.....	34
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1 Kurva Standar Gula Pereduksi.....	35
4.2 Pengaruh Penambahan Limbah Tapioka Padat pada Ampas Tahu Sebagai Media Tanam Terhadap Aktivitas Enzim Amilase	38
4.3 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Aktivitas Enzim Amilase	44
4.4 Pengaruh Aktivitas Enzim Amilase Terhadap Penambahan Sumber Nitrogen	45
4.5 Pengaruh Penambahan Sumber Karbon Terhadap Aktivitas Enzim Amilase	50
4.6 Penelitian Terdahulu	54
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	60

DAFTAR PUSTAKA..... 61

LAMPIRAN 75

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbedaan kandungan unsur gizi dan kalori dalam kedelai basah, tahu dan ampas protein.....	10
Tabel 2.2 Komposisi limbah tapioka padat	11
Tabel 3.1 Rancangan penelitian tahap I.....	23
Tabel 3.2 Rancangan penelitian tahap II.....	24
Tabel 3.3 Rancangan penelitian tahap II.....	25
Tabel 4.1 Pembacaan Absorbansi Kurva Standar Gula Reduksi.....	37
Tabel 4.2 Penelitian Terdahulu	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kultur <i>Aspergillus niger</i> dan Kepala konidia <i>Aspergillus niger</i>	7
Gambar 2.2 Kultur <i>Neurospora crassa</i>	9
Gambar 2.3 Struktur ikatan dalam pati, struktur enzim α - amilase, stuktur amilosa.....	14
Gambar 2.4 Struktur kimia manosa.....	17
Gambar 2.5 Struktur kimia urea	18
Gambar 3.2 Diagram alir penelitian.....	34
Gambar 4.1 Kurva standar gula reduksi.....	36
Gambar 4.2 Sampel pengukuran kurva standar gula reduksi..	38
Gambar 4.3 Pengaruh penambahan limbah tapioka dan waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim amilase pada <i>Aspergillus niger</i>	39
Gambar 4.4 Pengaruh penambahan limbah tapioka dan waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim amilase pada <i>Neurospora crassa</i>	42
Gambar 4.5 Pengaruh penambahan urea terhadap aktivitas enzim amilase pada <i>Neurospora crassa</i> dan <i>Aspergillus niger</i>	46
Gambar 4.6 Pengaruh penambahan amonium sulfat terhadap aktivitas enzim amilase pada <i>Neurospora</i> <i>crassa</i> dan <i>Aspergillus niger</i>	48

Gambar 4.7 Pengaruh penambahan manosa terhadap aktivitas enzim amilase pada <i>Neurospora crassa</i> dan <i>Aspergillus niger</i>	52
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pengukuran Absorbansi Sampel Variasi	
Komposisi dan Waktu Fermentasi.....	75
Lampiran 2. Hasil Pengukuran Absorbansi Penambahan	
Sumber Nitrogen.....	82
Lampiran 3. Hasil Pengukuran Absorbansi Penambahan	
Sumber Karbon.....	84
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	86

DAFTAR SIMBOL

AE	: Aktivitas enzim (Unit/g substrat)
BMg	: Berat Mr Glukosa: $180(\frac{\mu\text{g}}{\mu\text{mol}})$
go	: absorbansi blanko aktivitas sampel
gt	: absorpsi sampel
t	: Masa Inkubasi
VE	: Volume Enzim (0,25 ml)
VT	: Volume total (enzim+substrat) (0,5 mL)

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di bidang industri penggunaan katalis banyak digunakan untuk membantu proses produksi. Katalis sendiri dapat dibedakan menjadi biokatalis maupun katalis kimia. Penggunaan enzim sebagai biokatalis sendiri lebih diminati dikarenakan lebih aman dan ramah lingkungan (Yulianto *et al.*, 2011). Salah satu enzim yang banyak digunakan sebagai biokatalis dibidang industri yaitu enzim amilase.

Enzim amilase dapat diproduksi melalui fermentasi fungi. Dimana dari proses fermentasi ini, fungi akan memproduksi amilase untuk memecah makanan sebelum diserap sebagai nutrisi yang digunakannya untuk tumbuh. Fungi memiliki keuntungan sebagai produsen amilase dikarenakan kapasitas massal yang ekonomis dan mudah untuk dimanipulasi (Saleem dan Ebrahim, 2013). Beberapa contoh fungi yang dapat digunakan untuk memproduksi enzim amilase yakni *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa* (Kurniati, 2012; Tavano *et al.*, 2008).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Saleem dan Ebrahim (2013), untuk memproduksi amilase dari fungsi, dibutuhkan kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan fungi, seperti kadar air yang relatif rendah, adanya sumber karbon dan nitrogen yang mencukupi. Untuk memanipulasi

kondisi lingkungan untuk pertumbuhan fungi dapat dilakukan fermentasi menggunakan metode *Solid State Fermentation* (SSF) dikarenakan kebutuhan peralatan yang sederhana, ekonomis dan ramah lingkungan (Ong, *et al.*, 2004). Adapun beberapa sumber karbon sederhana yang biasa dijadikan sebagai stimulan dalam fermentasi produksi amilase salah satunya adalah manosa (Akcan, 2011). Sedang untuk sumber nitrogen sederhana yang dapat digunakan untuk menunjang pertumbuhan fungi yaitu urea maupun ammonium sulfat (Bedan *et al.*, 2014).

Limbah tapioka padat merupakan hasil samping dari industri pengolahan tapioka yang berpotensi untuk digunakan sebagai media fermentasi dalam produksi enzim amilase karena ketersediaan yang melimpah dan kandungan karbon yang masih cukup tinggi. Menurut Yohanista *et al.* (2014), dari pengolahan ubi kayu menjadi tapioka akan dihasilkan limbah tapioka padat sebanyak 2/3 sampai 3/4 bagian dari bahan mentah berupa singkong. Selain itu, limbah tapioka masih mengandung 70,14% nitrogen ekstraktif bebas namun rendah akan protein kasar, yaitu hanya sekitar 1,04% berat kering (Nuraini *et al.*, 2009). Sehingga untuk memanfaatkan limbah tapioka dibutuhkan sumber nitrogen lainnya. Salah satu sumber nitrogen yang dapat digunakan yaitu ampas tahu. Menurut Suciati (2013), pada media koran online Inilahkoran.com, diketahui bahwa dari 2,5 ton kedelai yang diproduksi pada pengrajin tahu di Sumedang, akan menghasilkan sekitar 1,3 ton

ampas tahu yang selalu dibuang begitu saja ke sungai. Oleh karena itu, baik ampas tahu dapat dimanfaatkan lebih lanjut menjadi media untuk penanaman fungi dalam produksi enzim amilase.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penambahan berat limbah tapioka padat terbaik pada ampas tahu sebagai media tumbuh mikroorganisme penghasil enzim amilase, yakni *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*, melalui metode *Solid State Fermentation* (SSF) dengan penambahan sumber nitrogen dan sumber karbon sederhana.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun beberapa permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut ini.

1. Berapa berat limbah tapioka padat yang terbaik pada ampas tahu sebagai media untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*?
2. Apa jenis dan berapa kadar sumber nitrogen yang terbaik untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*?
3. Berapa kadar sumber karbon yang terbaik untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan sebagai berikut ini.

1. Untuk mengetahui berat limbah tapioka padat yang terbaik pada ampas tahu sebagai media untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*.
2. Untuk mengetahui jenis dan berapa kadar sumber nitrogen yang terbaik untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*.
3. Untuk mengetahui kadar sumber karbon yang terbaik untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*.

1.4 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut ini.

1. Bagi pelaku industri: Sebagai sumber informasi untuk memproduksi amilase yang lebih ekonomis.
2. Bagi peneliti: Sebagai sumber informasi untuk penelitian yang akan dilakukan selanjutnya dalam cakupan produksi amilase dari limbah pertanian.

1.5 Batasan Masalah

Agar penelitian yang dilakukan fokus, maka adapun hal-hal yang dibatasi diantaranya sebagai berikut ini.

1. Parameter yang diteliti hanya unit aktivitas enzim.
2. Peneliti hanya meneliti tentang berat limbah tapioka yang digunakan dalam media tanam, sumber dan jenis nitrogen serta karbon yang terbaik.
3. Peneliti hanya memproduksi enzim amilase dalam skala lab.
4. Peneliti tidak menganalisa energi dan analisa ekonomi yang digunakan.

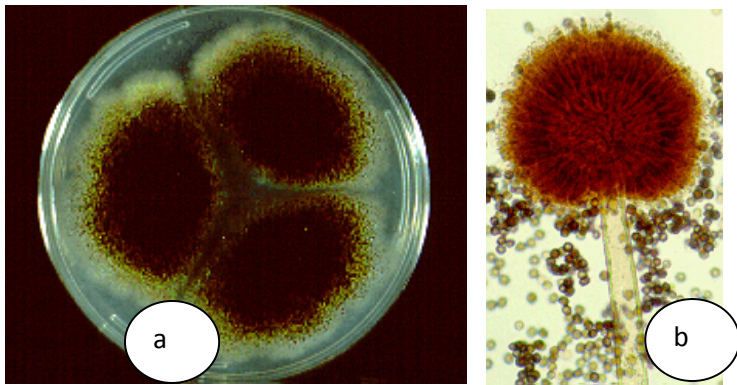
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger merupakan salah satu fungi yang paling umum digunakan dalam dunia teknologi. *A. niger* merupakan fungi yang dapat tumbuh dengan cepat diantara fungi lain. *A. niger* awalnya terlihat berwarna putih, namun setelah berkembang warna hitam terlihat pada atas fungi dan kuning pucat pada di bawahnya. Biasanya digunakan untuk memproduksi enzim ekstraselular dan asam sitrat (Schuster *et al.*, 2002). Enzim ekstraselular yang biasa diproduksi oleh *A. niger* yakni amilase, protease dan fitase (Kurniati, 2012). Adapun klasifikasi *A. niger* adalah sebagai berikut ini (Valasyifa, 2011; Diano, 2007).

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Fungi
Filum	: Ascomyceta
Sub-filum	: Pezizomycotina
Kelas	: Eurotiomycetes
Ordo	: <i>Eurotiales</i>
Famili	: <i>Trichocomaceae</i>
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus niger</i>

A. niger merupakan bakteri mesofilik yang dapat tumbuh pada batas temperatur yang bervariasi antara 6-47°C dengan temperatur relatif yang optimal sekitar 35–37°C, aktivitas air yang terbatas yakni 0,88; dan batas pH yang bervariasi antara 1,4-9,8 (Schuster *et al.*, 2002).



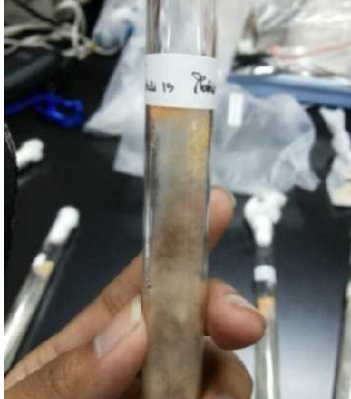
Gambar 2.1 (a) Kultur *Aspergillus niger* dan (b) Kepala konidia *Aspergillus niger* (Ellis, 2015)

2.2 *Neurospora crassa*

Neurospora crassa merupakan fungi yang umum digunakan dalam industri pangan. Hal ini dikarenakan sifat spesies *Neurospora* yang tidak menyebabkan penyakit pada hewan, bukan termasuk patogen dan kontaminasi akibat *Neurospora* sudah dapat dikendalikan (Perkins dan Davis, 2000). *N. crassa* dapat hidup optimal pada pH 5-6 dengan temperatur berkisar

antara 28–37°C (Singh dan Mishra, 1995). Adapun salah satu enzim yang dihasilkan oleh *N.crassa* yaitu amilase. Tavano *et al.* (2008), berpendapat bahwa amilase yang diproduksi dari *Neurospora crassa* memiliki stabilitas yang lebih tinggi dibandingkan amilase yang diproduksi dari *Aspergillus orizae* pada variasi nilai pH yang luas. Selain itu mereka juga menemukan bahwa enzim yang diproduksi dari *N. crassa* dapat diimmobilisasi pada penyangga yang berbeda dengan retensi aktivitas enzim yang baik. Adapun klasifikasi ilmiah dari *Neurospora crassa* sebagai berikut ini (Asri *et al.*, 2009).

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Pezizomycotina
Class	: Ascomycetes
Family	: Sordariaceae
Genus	: <i>Neurospora</i>
Species	: <i>Neurospora crassa</i>



Gambar 2.2 Kultur *Neurospora crassa*

2.3 Ampas Tahu

Ampas tahu adalah limbah padat berasal dari penyaringan bubur kedelai yang sudah melalui pemerasan berkali-kali dengan menyiram air panas sampai tidak mengandung sari lagi (Damayanti *et al.*, 2004). Menurut Ceha *et al.* (2011), ampas tahu didapat dalam proses pembuatan tahu yang merupakan hasil samping dari penyaringan susu kedelai yang memiliki banyak kelebihan seperti mengandung protein yang tinggi, banyak mengandung serat, serta murah dan mudah didapat, yang apabila dimanfaatkan sebagai bahan baku suatu produk kembali dapat mengurangi pencemaran dari limbah ampas tahu khususnya di daerah pertanian serta mampu memberikan alternatif gizi sebagai sumber protein. Ampas tahu mempunyai kandungan air 83,8%, protein 23,7%, lemak 10,1%, TDN 79% atas dasar bahan kering, protein kasar 18,21% dan ampas tahu

mencapai bobot 20% sehingga merupakan bahan pakan sumber protein apabila kadar airnya dikurangi sehingga tidak menyebabkan ampas tahu mudah rusak atau busuk (Rasjidi, 2009). Adapun perbedaan kandungan unsur gizi dan kalori dalam kedelai basah, tahu dan ampas tahu dapat dilihat pada **tabel 2.1**.

Tabel 2.1 Perbedaan kandungan unsur gizi dan kalori dalam kedelai basah, tahu dan ampas protein (Suprapti, 2005)

No.	Unsur Gizi	Kadar/100 g bahan		
		Kedelai Basah	Tahu	Ampas Tahu
1.	Energi (kal)	381,00	79,00	393,00
2.	Air (g)	20,00	84,80	4,90
3.	Protein (g)	30,20	7,80	17,40
4.	Lemak (g)	15,60	4,60	5,90
5.	Karbohidrat (g)	30,10	1,60	67,50
6.	Mineral (g)	4,10	1,20	4,30
7.	Kalsium (mg)	196,00	124,00	19,00
8.	Fosfor (mg)	506,00	63,00	29,00
9.	Zat besi (mg)	6,90	0,08	4,00
10.	Vitamin A (mg)	29,00	0,00	0,0
11.	Vitamin B (mg)	0,93	0,06	0,20

2.4 Limbah Tapioka Padat

Dari proses pengolahan singkong menjadi tepung tapioka, dihasilkan sekitar 75% dari bahan mentahnya adalah hasil samping berupa limbah tapioka padat (Sari *et al.*, 2013). Limbah tapioka padat merupakan limbah padat dari produksi tepung tapioka dari singkong dan mengandung banyak polisakarida dan

gula pereduksi yang dalam pertahunnya dihasilkan sekitar 6×10^3 ton/tahun (Wahyuono *et al.*, 2015). Nutrien utama limbah tapioka padat adalah karbohidrat 69-70% yang berpotensi untuk diolah menjadi pakan ternak, namun rendahnya nilai gizi dan tingginya kandungan sianida menjadi kendala apabila limbah tapioka padat langsung dijadikan pakan ternak (Rosningsih, 2014). Limbah tapioka padat dapat juga digunakan sebagai media sumber karbon dalam fermentasi yang mengandung nitrogen ekstraktif 70,14% namun protein kasarnya masih rendah yakni 1,04% berat kering, dan membutuhkan sumber nitrogen tambahan untuk menumbuhkan fungi (Nuraini *et al.*, 2009).

Tabel 2.2 Komposisi limbah tapioka padat (Atika dan Apsaria, 2011)

Komposisi	Kandungan (%)^a
Bahan Kering	-
Karbohidrat	34,75
Serat	32,50
Protein	0,93
Lemak	0,19
Air	27,63
Abu	3,99

2.5 Solid State Fermentation (SSF)

Menurut Pandey (2013), sistem *Solid State Fermentation* (SSF) didefinisikan sebagai fermentasi yang mencakup solid

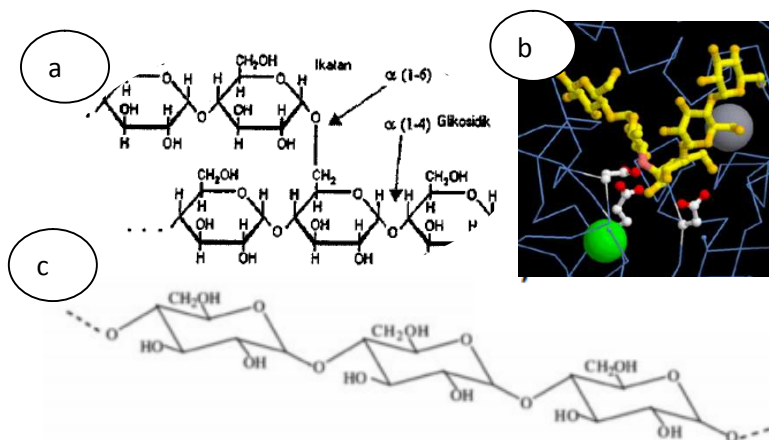
tanpa (atau hampir tanpa) adanya air bebas; tetapi, substrat yang digunakan harus memiliki kandungan air yang memadai untuk mendukung pertumbuhan dan metabolisme dari mikroorganisme. Ia juga berpendapat ada beberapa aspek yang perlu diperhatikan dalam fermentasi menggunakan SSF, salah satunya yakni pemilihan mikroorganisme yang sesuai. Berdasarkan teori aktivitas air, hanya fungi dan yeast yang mampu difermentasikan dengan menggunakan metode SSF, dikarenakan kebutuhan akan aktivitas air pada media tumbuh mereka yang relatif rendah, sekitar 0,5-0,6 a_w (Thomas *et al.*, 2013). Selama lebih dari tiga dekade teknologi SSF telah digunakan untuk memproduksi berbagai macam produk-produk yang berbeda salah satunya yakni enzim seperti amilase, protease, lipase, tannase, selulase dan rennet (Mitchell *et al.*, 2006). SSF mendapat banyak perhatian pada beberapa tahun ini karena mereka memiliki beberapa keuntungan secara praktis dan ekonomis, mencakup konsentrasi produk yang lebih tinggi, meningkatkan kemampuan pemulihan produk, peralatan penanamannya sangat mudah, mengurangi keluaran limbah cair, investasi biaya yang lebih rendah dan biaya pengoperasiannya lebih murah (Onget *et al.*, 2004).

2.6 Enzim Amilase

Selama beberapa dekade proses berdasar enzim terus menggantikan proses kimia tradisional dengan berperan sebagai biokatalis yang telah banyak diterapkan pada industri

kimia, obat-obat, makanan, kosmetik, tekstil, kertas dan *pulp* (Choi *et al.*, 2015). Enzim adalah protein katalitik, yang merupakan suatu agen kimiawi yang mengubah laju reaksi tanpa dipergunakan oleh reaksi itu (Campbell, 2002). Setiap enzim dapat bekerja secara efektif pada selang temperatur, tekanan dan pH tertentu (Kent, 2000).

Menurut Nangin dan Sutrisno (2015), enzim amilase merupakan enzim yang mampu mengkatalis proses hidrolisa pati untuk menghasilkan molekul lebih sederhana seperti glukosa, maltose dan dekstrin. Enzim amilase bekerja berdasarkan oleh hidrolisis ikatan antara unit glukosa, karakteristik produk dari enzim yang bersangkutan (Aiyer, 2005). Amilase diklasifikasikan menjadi tiga jenis berdasarkan cara pemutusan molekul pati yakni, α -amilase, β -amilase dan amiloglukosidase (Ekunsaumi, 2009). α -amilase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis pati dan glikogen secara acak melalui pemotongan internal ikatan α -1,4-glikosida (Lestari *et al.*, 2011; Aiyer, 2005). Komponen aktif enzim α -amilase terdiri dari tiga grup asam (yang berwarna merah dan putih, yang mengerjakan sebagian besar dari pekerjaan), mengandung lima unit rantai gula (yang berwarna jingga dan kuning), tempat pemecahan (berwarna merah muda), ion kalsium (yang berwarna abu-abu, yang berfungsi sebagai penstabil struktur enzim) dan ion klorin (yang berwarna hijau, pada bawah komponen aktif yang dapat membantu terjadinya reaksi) (Goodsell, 2006).



Gambar 2.3 (a) Struktur ikatan dalam pati (Maemunah dan Ali S., 2006) (b) Struktur enzim α -amilase (Goodsell, 2006) (c) Struktur amilosa (Nangin dan Sutrisno, 2015)

Pada beberapa tahun ini, diketahui potensi penggunaan mikroorganisme sebagai sumber bioteknologi dari industri yang berkaitan dengan enzim memacu ketertarikan dalam bidang eksplorasi aktivitas produksi enzim ekstraselular oleh mikroorganisme (Karnwal dan Nigam, 2013). Beberapa keunggulan enzim amilase dari mikroba, yakni waktu produksi cepat, proses mudah dimodifikasi dan tidak memerlukan tempat yang luas (Nangin dan Sutrisno, 2015). Amilase yang dihasilkan oleh fungi juga diketahui lebih stabil dibandingkan enzim yang dihasilkan secara skala komersial oleh bakteri (Rinku *et al.*, 2012).

Enzim hidrolisis memiliki beberapa keuntungan seperti lebih spesifik, pembentukan produk sampingan yang lebih sedikit dan

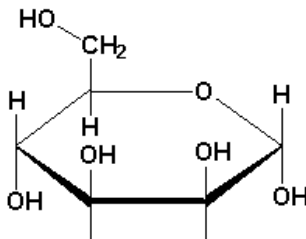
yield yang lebih tinggi (Aiyer, 2005). Sehingga penggunaan enzim untuk hidrolisis pati lebih diminati dibanding hidrolisis dengan asam. Penggunaan enzim amilase dalam pemecahan pati ini telah diterapkan dalam berbagai industri untuk memangkas tingkat kebutuhan energi yang digunakan karena dengan penggunaan enzim amilase pati dapat dipecah tanpa adanya proses gelatinisasi (Nangin dan Sutrisno, 2015). Rinku *et al.* (2012), menjelaskan bahwa, enzim amilase banyak diaplikasikan pada pembuatan bir, industri tekstil, detergen dan farmasi.

Kinerja suatu enzim dapat dinyatakan sebagai aktivitas enzim. Aktivitas enzim dapat dinyatakan dalam berbagai berbagai unit sederhana, seperti perubahan absorbansi per satuan waktu per mg protein enzim, namun akan lebih baik jika dinyatakan dengan standar seperti Internasional Unit atau Unit Enzim (Eisenthal dan Danson, 2002). Aktivitas enzim dapat didefinisikan sebagai jumlah glukosa yang diproduksi dalam reaksi campuran per waktu (Ekunsaumi, 2009). Aktivitas enzim dapat diukur melalui penurunan viskositas larutan pati, penurunan turbiditas dari suspensi pati, penurunan intensitas reaksi iodin pati dan peningkatan grup pada reaksi medium (Alina *et al.*, 2012). Namun aktivitas amilase biasa diukur menggunakan metode kalorimetrik dengan reagen DNS (3,5-*dinitrosalicylic acid*) (Karnwal dan Nigam, 2013; Dutta *et al.*, 2005; Alina *et al.*, 2012).

2.7 Sumber Karbon dan Sumber Nitrogen

Sumber karbon dan sumber nitrogen dibutuhkan dalam pertumbuhan fungi (Saleem dan Ebrahim, 2013). Kedua unsur ini sangat penting dalam keberlangsungan metabolisme sekunder maupun reproduksi fungi. Sehingga dari beberapa penelitian yang telah dilakukan kedua komponen ini seringkali ditambahkan sebagai stimulator fungi.

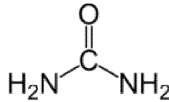
Unsur karbon merupakan unsur penyusun utama dalam pembentukan sel. Salah satu sumber karbon yang sering digunakan dalam produksi enzim amilase adalah manosa. Dalam sel, dua fungsi fisiologi utama reseptor manosa yaitu daur ulang molekul dan sebagai pertahanan sel (Stahl (1990) dalam Friedlander dan Mueckler, 1992). Manosa juga memiliki peranan penting dalam produksi enzim lisosomal. Di lisosom sel, manosa banyak ditemukan dalam bentuk mannose-6-fosfat berikatan dengan oligosakarida-N yang berfungsi sebagai reseptor di jaringan trans badan golgi untuk produksi enzim hidrolisis (Karp, 2009).



Gambar 2.4 Struktur kimia manosa

Nitrogen diperlukan untuk sintesis asam amino, purin, pirimidin, karbohidrat, lipid, kofaktor enzim dan substansi lainnya. Nitrogen membantu formasi dari asam amino yang akan membentuk protein. Karena semua enzim merupakan protein, maka sumber nitrogen akan menstimulasi sekresi enzim amilase lebih banyak (Suribabu *et al.*, 2014). Adapun sumber nitrogen yang sering digunakan sebagai suplementasi dalam produksi enzim amilase dari fungi beberapa diantaranya adalah urea dan ammonium sulfat (Bedan *et al.*, 2014; Asad *et al.*, 2001).

Urea memiliki rumus kimia $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ dengan berat molekul 60,06 g/mol dan titik leleh $132,7^\circ\text{C}$ (ScienceLab, 2005). Urea sendiri bentuk kristal padat berwarna putih. Urea merupakan pupuk nitrogen yang paling mudah dipakai dengan kandungan nitrogen paling tinggi (46%) diantara semua pupuk padat dan mudah larut didalam air (Sirait, 2010).



Gambar 2.5 Struktur kimia urea

Amonium sulfat memiliki rumus kimia $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan berat molekul 132,14 g/mol dan titik leleh 280°C (ScienceLab, 2005). Amonium sulfat biasa disebut pupuk ZA (*Zwuafeel Amonium*) banyak dimanfaatkan sebagai pupuk nitrogen yang merupakan jenis pupuk anorganik tunggal yang terdiri dari unsur sulfur (24%) dalam bentuk ion sulfat dan unsur nitrogen (21%) dalam bentuk ion ammonium (Sianturi, 2012).

Keuntungan penggunaan ammonium sulfat dibanding pupuk nitrogen lainnya yaitu (Setyamidjaja (1986) dalam Sianturi, 2012) sebagai berikut ini.

1. Mengandung unsur nitrogen dan sulfur, sedangkan unsur sulfur ini tidak dimiliki pupuk nitrogen lainnya, misal urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), ammonium nitrat (NH_4NO_3) dan senyawa chili (NaNO_3). Kedua unsur ini merupakan jenis unsur hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah besar atau disebut makronutrient.
2. NH_4^+ yang dikandung dalam ammonium sulfat juga dapat diserap secara langsung sehingga tidak membutuhkan mikroorganisme tanah untuk mengurai NH_4^+ seperti pada pupuk urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilakukan pada Januari sampai dengan April 2016 pada Laboratorium Ekologi Fisiologi, Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia (LIPI), Jl. Raya Jl. Raya Bogor KM.46, Cibinong, Bogor, Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut ini.

1. *Spektrofotometer* (MAPADA V-1100P): untuk analisa konsentrasi glukosa
2. *Sentrifugator* dan *Eppendorf* (H-15FR): untuk mengekstrak enzim
3. Laminar (SANYO Bio Clean Bench-MCV-B131F(T)): untuk membantu dalam penanaman fungi agar tidak terkontaminasi
4. *Incubator* (Central Kagaku Corp CB-5): untuk tempat inkubasi pertumbuhan yeast
5. Autoklaf (TOMY SX-500): untuk sterilisasi alat dan bahan
6. Timbangan digital (Sartorius TE 15025): untuk menimbang massa bahan

7. *Furnish* (ISUZU EP): untuk memanaskan larutan
8. *Magnetic stirrer*: untuk membantu pengadukan pembuatan media
9. Pipet tetes: untuk mengambil larutan dengan volume yang tepat
10. Mikropipet dan tip: untuk mengambil larutan dalam volume kecil
11. Bunsen: untuk sterilisasi
12. Blender: untuk menghaluskan bahan
13. Gelas ukur: untuk mengukur volume larutan
14. Tabung reaksi: untuk mereaksikan larutan
15. Erlemeyer: untuk membuat media
16. Lemari es: untuk menyimpan bahan pada suhu rendah
17. Kain saring ukuran 60 mesh: untuk menyeragamkan ukuran bahan

3.2.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut ini.

1. Ampas tahu: sebagai bahan perlakuan, diambil dari pabrik tahu Cibinong, Bogor.
2. Limbah tapioka: sebagai bahan perlakuan, diambil dari pabrik pengolah tapioka Kedung Halang, Bogor.
3. Manosa: sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan fungi
4. *Potatoes Dextrose Agar* (PDA): media untuk menumbuhkan fungi (BD)

5. Aquades: sebagai pelarut
6. DNS: sebagai agen pewarna dalam pembacaan spektrofotometer (SIGMA)
7. NaOH: bahan pembuat larutan dns (MERCK)
8. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: sebagai sumber nitrogen (MERCK)
9. Urea: sebagai sumber nitrogen (INaCC)
10. Amilum: sebagai substrat enzim amilase (MERCK)
11. CH_3COONa : bahan pembuatan buffer asetat pH 5,2 (MERCK)
12. CH_3COOH : bahan pembuatan buffer asetat pH 5,2 (MERCK)
13. *Aspergillus niger*: sebagai fungi fermentasi penghasil enzim (koleksi INaCC LIPI, Bogor)
14. *Neurospora crassa*: sebagai fungi fermentasi penghasil enzim (koleksi InaCC LIPI, Bogor)
15. Alkohol 70%: untuk mensterilkan alat dan meja kerja
16. D-glukosa: untuk membuat standar gula pereduksi (MERCK)
17. *Trace element*: sumber mikroelemen penunjang pertumbuhan fungi ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
18. Plastik tahan panas: sebagai pembungkus bahan perlakuan
19. Tusuk sate: untuk membantu dalam penyebaran spora fungi

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tiga tahapan dan menggunakan metode eksperimen dengan analisis hasil secara deskriptif dengan tiga pengulangan masing-masing tahapan. Pada tahapan pertama adapun dua faktor perlakuan yang diteliti yakni penambahan limbah tapioka padat pada media tanam yang terdiri dari 0%, 25%, 50%, 75%, 100%. Faktor pertama adalah komposisi limbah tapioka padat. Sedangkan faktor kedua adalah ampas tahu. Berdasarkan faktor-faktor tersebut didapatkan 5 perlakuan dan 3 kali pengulangan, sehingga didapat 15 sampel. Kemudian hasil terbaik dari tahapan pertama penelitian akan digunakan sebagai acuan pada tahapan kedua penelitian. Adapun acuan komposisi tiap satu sampel media adalah dapat dilihat pada halaman selanjutnya.

Faktor I. Komposisi limbah tapioka	Faktor II. Komposisi ampas tahu
A ₀ : 0 gr (0%)	B ₁₀ : 10 gr (0%)
A _{2,5} : 2,5 gr (25%)	B _{7,5} : 7,5 gr (25%)
A ₅ : 5 gr (50%)	B ₅ : 5 gr (50%)
A _{7,5} : 7,5 gr (75%)	B _{2,5} : 2,5 gr (75%)
A ₁₀ : 10 gr (100%)	B ₀ : 0 gr (100%)

Tabel 3.1 Rancangan penelitian tahap I

Perlakuan	Pengulangan		
	1	2	3
A_0B_{10}	$A_0B_{10}^1$	$A_0B_{10}^2$	$A_0B_{10}^3$
$A_{2,5}B_{7,5}$	$A_{2,5}B_{7,5}^1$	$A_{2,5}B_{7,5}^2$	$A_{2,5}B_{7,5}^3$
$A_{50}B_{50}$	$A_{50}B_{50}^1$	$A_{50}B_{50}^3$	$A_{50}B_{50}^3$
$A_{7,5}B_{2,5}$	$A_{7,5}B_{2,5}^1$	$A_{7,5}B_{2,5}^2$	$A_{7,5}B_{2,5}^3$
$A_{20}B_0$	$A_{10}B_0^1$	$A_{10}B_0^3$	$A_{10}B_0^3$

Pada tahapan kedua penelitian ini, faktor yang diteliti yakni jenis dan penambahan sumber nitrogen. Hasil yang paling baik dari komposisi media tanam dan kadar stimulan terbaik akan digunakan untuk membandingkan penambahan kadar sumber nitrogen berupa urea dan $(NH_4)_2SO_4$ yang masing-masing terdiri dari 0; 0,5% dan 1%. Berdasarkan faktor-faktor tersebut maka akan didapat 6 sampel dengan 3 kali pengulangan, sehingga akan didapat 18 sampel.

Faktor III. Media tanam + Faktor IV. Kadar sumber
simulan nitrogen

M : Media tanam

A_0 : 0% Urea

$A_{0,5}$: 0,5% Urea

A_1 : 1% Urea

B_0 : 0% $(NH_4)_2SO_4$

$B_{0,5}$: 0,5% $(NH_4)_2SO_4$

B_1 : 1% $(NH_4)_2SO_4$

Tabel 3.2 Rancangan penelitian tahap II

Perlakuan	Pengulangan		
	1	2	3
M A ₀	M A ₀ ¹	M A ₀ ²	M A ₀ ³
M A _{0,5}	M A _{0,5} ¹	M A _{0,5} ²	M A _{0,5} ³
M A ₁	M A ₁ ¹	M A ₁ ²	M A ₁ ³
M B ₀	M B ₀ ¹	M B ₀ ²	M B ₀ ³
M B _{0,5}	M B _{0,5} ¹	M B _{0,5} ²	M B _{0,5} ³
M B ₁	M B ₁ ¹	M B ₁ ²	M B ₁ ³

Pada tahapan ketiga penelitian ini, faktor yang diteliti yakni penambahan sumber karbon. Hasil yang paling baik dari komposisi media tanam akan digunakan untuk membandingkan penambahan stimulan berupa manosa yang terdiri dari 0%; 0,05% dan 0,1%. Berdasarkan faktor-faktor tersebut maka akan didapat 3 sampel dengan 3 kali pengulangan, sehingga akan didapat 9 sampel. Adapun faktor-faktor penelitian tahap dua sebagai berikut ini.

Faktor IV. Media tanam

M: Media tanam +kadar
sumber nitrogen terbaik

Faktor V. Kadar sumber
karbon

S₀ : 0,5% Manosa

S_{0.05}: 0,05% Manosa

S_{0.1} : 0,1% Manosa

Tabel 3.3 Rancangan penelitian tahap II

Perlakuan	Pengulangan		
	1	2	3
M S ₀	M S ₀ ¹	M S ₀ ²	M S ₀ ³
M S _{0,05}	M S _{0,05} ¹	M S _{0,05} ²	M S _{0,05} ³
M S _{0,1}	M S _{0,1} ¹	M S _{0,1} ²	M S _{0,1} ³

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Bahan (Limbah Tapioka Padat dan Ampas Tahu)

Limbah tapioka padat yang didapat dari pabrik pengolahan singkong di Kedung Halang, Bogor, dimasukkan kedalam plastik tahan panas. Kemudian dipanaskan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Hal ini dilakukan untuk mempermudah saat proses pengeneputan limbah tapioka padat. Setelah diautoklaf, limbah tapioka dihaluskan dan disaring menggunakan kain saring berukuran 60 mesh.

Ampas tahu yang didapat dari pabrik tahu Cibinong, Bogor, diperas untuk mengurangi kadar air bahan. Ampas tahu yang telah peras tersebut dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60⁰C selama 4 jam. Ampas tahu yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan kain saring berukuran 60 mesh.

3.4.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat-alat gelas, tip, dan tabung *ependorf* dicuci dengan menggunakan sabun dan air hingga bersih. Kemudian alat-alat yang telah dibersihkan tersebut dikeringkan. Alat berupa tabung reaksi, tip, dan tabung *ependorf* masing-masing dimasukkan kedalam plastik tahan panas kemudian diikat. Alat berupa *erlenmeyer* ditutup dengan menggunakan kapas dan aluminium foil. Kemudian, keseluruhan alat-alat tersebut dimasukkan kedalam *autoclave* untuk disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.3 Pembuatan Grafik Standar Gula Pereduksi

Pembuatan gula pereduksi dengan konsentrasi 1000 ppm dilakukan dengan melarutkan 0,1 gram D-glukosa pada 100 ml aquades. Kemudian dari larutan pembuatan gula pereduksi dengan konsentrasi 1000 ppm diecerkan sehingga didapat larutan gula pereduksi dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Adapun perbandingan pengencerannya adalah sebagai berikut ini.

100 ppm: 1 ml larutan gula pereduksi 1000 ppm + 9 ml aquades

200 ppm: 2 ml larutan gula pereduksi 1000 ppm + 8 ml aquades

300 ppm: 3 ml larutan gula pereduksi 1000 ppm + 7 ml aquades

400 ppm: 4 ml larutan gula pereduksi 1000 ppm + 6 ml aquades

500 ppm: 5 ml larutan gula pereduksi 1000 ppm + 5 ml aquades

600 ppm: 6 ml larutan gula pereduksi 1000 ppm + 4 ml aquades

Kemudian dari masing-masing sampel gula pereduksi ini diambil sebanyak 500 µl dan ditambahkan 500µl DNS. Campuran dari masing-masing larutan ini dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100°C dan diukur densitas optiknya dengan menggunakan spektrofotometer pada gelombang 540 nm. Sedangkan pembuatan blanko sampel untuk pengukuran gula pereduksi, sebanyak 500µl aquades dicampurkan dengan 500µl aquades dan dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100°C. Dari hasil pengukuran densitas optik, maka akan didapat kurva standar gula pereduksi.

3.4.4 Pembuatan Media dalam Cawan Petri

Pembuatan media dalam petridisk dilakukan dengan memanaskan 3,9 gram PDA dalam 100 ml aquades hingga larutan berwarna bening. Larutan PDA yang telah bening disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit pada autoklaf. Kemudian larutan PDA dituangkan pada petridisk dan didiamkan hingga memadat.

3.4.5 Persiapan *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa*

Persiapan *Aspergillus niger* dilakukan dengan menumbuhkan sedikit kultur *Aspergillus niger* pada media agar. Kemudian *Aspergillus niger* yang telah ditanamkan pada media agar diinkubasi pada inkubator selama 3 hari pada temperatur

30°C. Hal yang sama juga dilakukan pada persiapan *Neurospora crassa*.

3.4.6 Persiapan Media Tanam

Tepung limbah tapioka ditimbang masing-masing sebanyak 10gr (100%); 7,5gr (75%); 5gr (50%); 2,5gr (25%) yang kemudian dimasukan kedalam plastik tahan panas. Masing-masing tepung ampas tahu ditimbang sebanyak 7,5gr (25%); 5gr (50%); 2,5gr (25%) dan 10gr (0%) yang kemudian dimasukan kedalam plastik tahan panas. Tepung limbah tapioka padat dan ampas tahu yang telah ditimbang, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian semua media yang telah disterilisasi disatukan dalam laminar sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan yakni 100%, 75%, 50%, 25% dan 0%. Kemudian disimpan pada kondisi steril agar meminimalisir adanya kontaminasi.

3.4.7 Proses Penanaman Fungi pada Media Tanam (Penentuan Komposisi Media tanam Optimal)

Proses penanaman fungi pada media tanam dilakukan dalam laminar agar meminimalisir adanya kontaminasi. Masing-masing fungi yang telah ditumbuhkan diambil koloninya dengan menggunakan tip berdiameter 1 cm sebanyak 3 kali. Kemudian masing-masing koloni dan 10 ml larutan campuran (1% *trace element* dalam 10 ml aquades) dimasukan ke media tanam,

kemudian dicampurkan agar merata. Kemudian media tanam yang telah berisi fungi direkatkan agar meminimalisir kontaminasi dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu 30°C.

3.4.8 Proses Penentuan Kadar Sumber Nitrogen Optimal

Proses penentuan kadar sumber nitrogen optimal dilakukan apabila komposisi media tanam dan waktu inkubasi optimal telah diketahui. Adapun tahapan yang dilakukannya sama dengan proses penanaman fungi pada media tanam dengan komposisi media tanam yang optimal dan diinkubasi pada temperatur 30°C. Namun yang membedakannya yakni adanya penambahan berupa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan urea. Penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dilakukan sebanyak 0,05 gr (0,5%); 0,1 gr (1%) pada masing-masing sampel. Sedang penambahan urea sebanyak 0,05 gr (0,5%); 0,1 gr (1%) pada sampel lainnya. Sampel tanpa adanya penambahan sumber nitrogen (baik $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ maupun urea) juga dilakukan sebagai kontrol (0%).

3.4.9 Proses Penentuan Kadar Sumber Karbon Optimal

Proses penentuan sumber karbon optimal dilakukan apabila komposisi media tanam, waktu inkubasi serta jenis dan kadar nitrogen optimal untuk masing-masing fungi telah diketahui. Adapun tahapan yang dilakukan sama dengan proses penanaman fungi pada media tanam dengan komposisi media tanam dan sumber nitrogen yang optimal kemudian diinkubasi

pada 30°C. Namun yang membedakannya yakni adanya penambahan berupa manosa sebanyak 0gr (sebagai kontrol); 0,005gr (0,05%); 0,01gr (0,1%).

3.4.10 Ekstraksi Enzim

Proses ekstraksi enzim dilakukan dengan mengambil 1 gr sampel yang ditambahkan dengan 9 ml aquades. Kemudian larutan sampel dihomogenkan selama 15 menit. Larutan sampel yang sudah homogen diambil sebanyak 2 ml pada *eppendorf* dan disentrifugasi selama 10 menit pada 8000 rpm dan suhu 4°C. Melalui tahapan diatas maka didapat supernatan dari ekstrak enzim kasar.

3.4.11 Pengujian Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim α -amilase diuji dengan metode DNS modifikasi. Pada penelitian yang telah dilakukan, pengujian aktivitas amilase dilakukan pada suhu 27-28°C. Supernatan ekstrak enzim kasar yang didapat, diambil sebanyak 250 μ l ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan substrat enzim α -amilase (1% amilum dalam buffer asetat pH 5,2) sebanyak 250 μ l. Kemudian campuran ini diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 30°C. Setelahnya campuran yang telah diinkubasi ditambahkan dengan 500 μ l DNS (1,3-Asam Dinitrosalisilik) dan dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100°C. Kemudian

diukur densitas optiknya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Sedangkan untuk blanko aktifitas dari enzim α -amilase sendiri diukur melalui pencampuran 250 μ l supernatan enzim kasar yang dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100⁰C. Kemudian campuran ini ditambahkan dengan substrat enzim α -amilase (1% amilum dalam buffer asetat pH 5.2) dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30⁰C dan ditambahkan DNS sebanyak 500 μ l. Setelahnya campuran ini dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100⁰C dan diukur densitas optiknya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540nm. Blanko spektro sendiri dibuat dengan mencampurkan 500 μ l aquades dan 500 μ l DNS yang dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100⁰C. Densitas optik yang terukur kemudian akan dibandingkan dengan grafik standar gula pereduksi (D-glukosa).

3.5 Pengamatan dan Analisa Data

3.5.1. Pengamatan

Pada penelitian ini ampas tahu dan limbah tapioka dilakukan inkubasi dengan *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa* selama lima hari dengan kondisi-kondisi yang telah ditentukan. Pengamatan pada tahapan penentuan komposisi media tanam dilakukan selama tiga hari, yaitu hari ketiga, keempat dan kelima fermentasi. Sedangkan pengamatan pada tahapan penentuan

sumber nitrogen dan sumber karbon dilakukan pada hari terbaik fermentasi dari tahap penentuan komposisi media tanam saja.

Untuk mengetahui pengaruh kondisi yang telah diberikan, adapun parameter yang diamati yaitu aktivitas enzim amilase. Penentuan untuk komposisi media tanam, kadar stimulan, jenis sumber nitrogen dilakukan melalui pembacaan aktivitas enzim amilase. Dimana pembacaan aktivitas enzim amilase melalui pembacaan absorbansi pada spektrofotometer dengan menggunakan pembacaan panjang gelombang 540 nm.

3.5.2. Pengamatan dan Analisa Data

Analisa data hasil pengukuran absorbansi glukosa melalui pembacaan absorbansi pada spektrofotometer dihitung aktivitas enzim tertinggi dari masing-masing faktor perlakuan. Satu unit amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk melepaskan 1 μmol glukosa dalam satu menit kondisi pengujian (pH 5.2) (Putri, 2015). Langkah awal menghitung aktivitas enzim amilase adalah dengan mencari konsentrasi gula yang terkandung dalam sampel terlebih dahulu melalui standar glukosa yang didapat. Adapun konsentrasi gula dalam sampel dapat dihitung dengan mengkonversi absorbansi sampel dengan menggunakan rumus sebagai berikut ini (Ramadhan, 2015).

$$\text{Konsentrasi glukosa dalam sampel} = 2gt - go$$

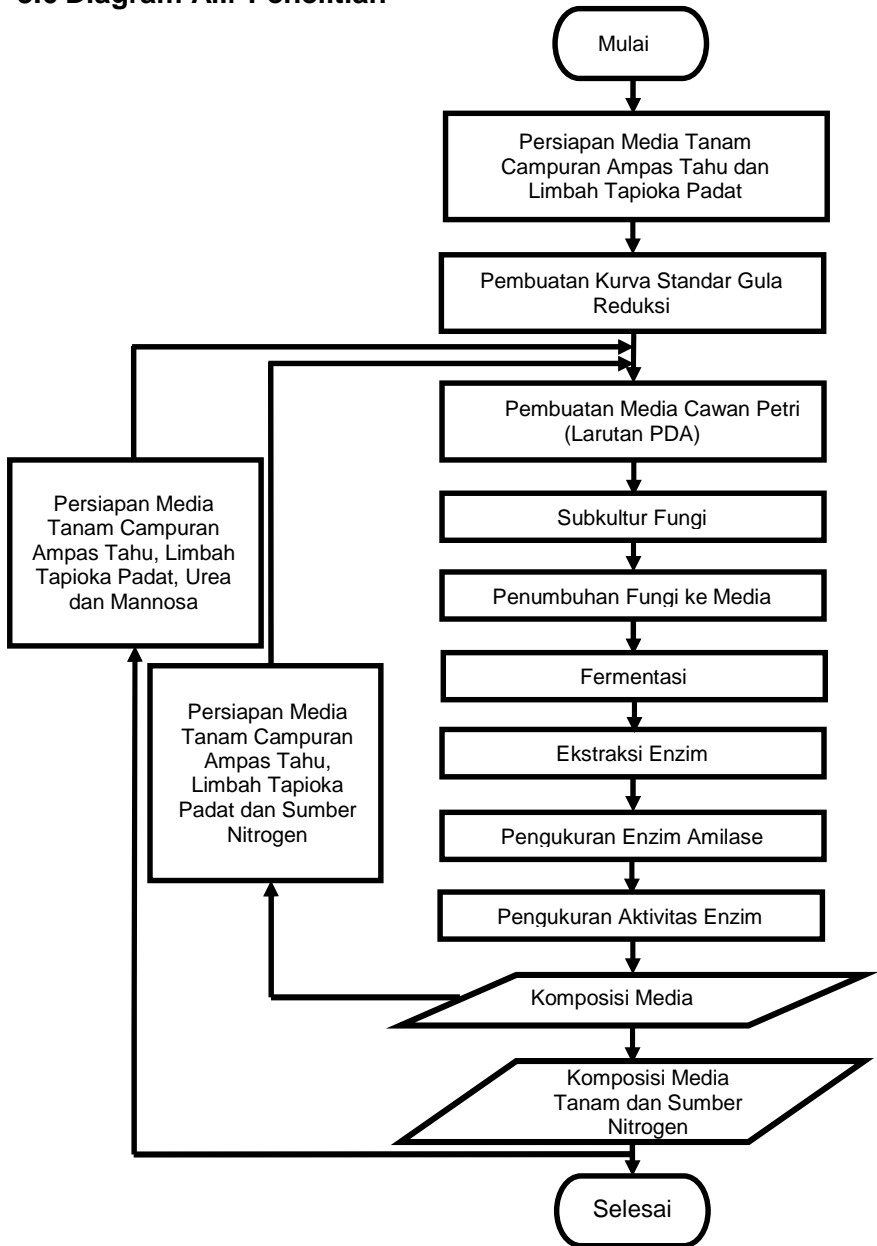
Kemudian hasil konversi pembacaan absorbansi dimasukan kedalam persamaan kurva standar dan barulah didapat konsentrasi gula dalam sampel.

Setelah diketahui konsentrasi gula yang terkandung dalam sampel, aktivitas enzim amilase dapat dihitung melalui rumus sebagai berikut ini (Putri, 2015).

Aktivitas enzim (Unit/gr substrat)

$$AE \left(\frac{U}{g} \right) = \frac{[glukosa]mg}{L} \times \frac{1}{BM(\frac{\mu g}{\mu mol})} \times \frac{1}{waktu(menit)} \times \frac{VT}{VE} \\ \times 10 \frac{ml \text{ enzim}}{1g \text{ substrat}} \times FP$$

3.6 Diagram Alir Penelitian

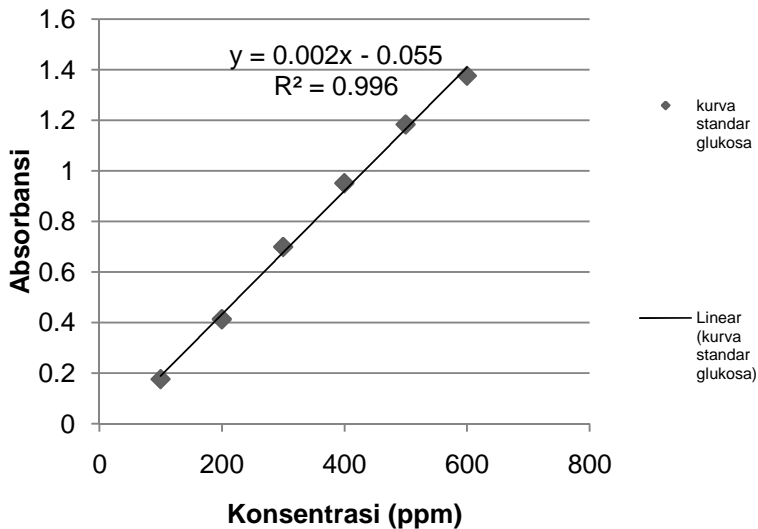


Gambar 3.2 Diagram alir penelitian

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kurva Standar Gula Pereduksi

Pengujian aktivitas α -amilase didasari dengan uji gula reduksi. Uji gula reduksi sendiri merupakan suatu pemeriksaan yang didasarkan pada prinsip bahwa tiap oksidasi gula maka senyawa lain mengalami reduksi yang menyebabkan pembentukan warna yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah gula yang tereduksi (Marks, 2000). Pada pengujian aktivitas α -amilase, α -amilase mengkatalisis proses hidrolisis ikatan α -1,4 glikosidik pada pati untuk memproduksi glukosa, dektrin dan limit dektrin, dengan ditandai oleh meningkatnya konsentrasi dari gula pereduksi dan menurunnya pewarna iodine dari substrat yang diuji (Pandey, 2000). Sehingga, untuk menghitung konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan oleh masing-masing sampel dibutuhkan kurva standar gula reduksi. Adapun variasi konsentrasi pengujian gula pereduksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100, 200, 300, 400, 500 dan 600 ppm pada panjang gelombang 540 nm.



Gambar 4.1 Kurva standar gula reduksi

Persamaan garis yang didapatkan dari hasil pengukuran kurva standar gula pereduksi yaitu $y = 0,002x - 0,055$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,996 (**Gambar 4.1**). Hal ini menjadi baik karena berkesesuaian dengan pendapat Robinson *et al.* (2014), yang menyatakan bahwa koefisien korelasi dengan nilai 1 menyatakan bahwa terdapat hubungan secara langsung antara x dan y, sehingga kebanyakan kurva kalibrasi linear harus memiliki koefisien korelasi sebesar 0,99 atau lebih. Dari kurva standar ini juga diketahui bahwa pembacaan absorbansi untuk konsentrasi 100 ppm yaitu 0,1. Sedangkan untuk pembacaan absorbansi konsentrasi 600 ppm yaitu 1,3. Dari grafik yang didapat diketahui bahwa semakin besar absorbansi

yang terbaca maka akan semakin besar pula konsentrasi gula pereduksi yang terkandung. Hal ini juga dibuktikan oleh penelitian dari Ramadhan (2015), dimana nilai absorbansi yang didapat pada penelitiannya yaitu 0,194 untuk konsentrasi gula pereduksi 100 ppm dan 2,774 untuk konsentrasi gula pereduksi 1000 ppm. Hal ini juga sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa berkurangnya intensitas cahaya monokromatis yang melalui larutan yang menyerap cahaya monokromatis itu berbanding lurus dengan konsentrasi dan tebal medium larutan (Pudyaatmaka, 2002). Adapun pembacaan absorbansi selengkapnya dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Pembacaan Absorbansi Kurva Standar Gula Reduksi

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
100	0,1769
200	0,4139
300	0,6996
400	0,9514
500	1,1833
600	1,3755

*Persamaan yang didapatkan dari tabel berikut adalah $y = 0,002x - 0,055$ dengan nilai kelinieran adalah 0,996

Dari pengukuran kurva standar yang telah dilakukan, diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi dari gula pereduksi yang terkandung dalam sampel maka warna yang dihasilkan

akan semakin pekat (**Gambar 4.2**). Persamaan garis ini akan dipergunakan untuk menghitung konsentrasi gula reduksi dari amilase yang terhidrolisis oleh amilase. Adapun rentang pembacaan absorbansi sampel yang dapat diterima dalam kurva standar ini yaitu antara 0,1-1,3.

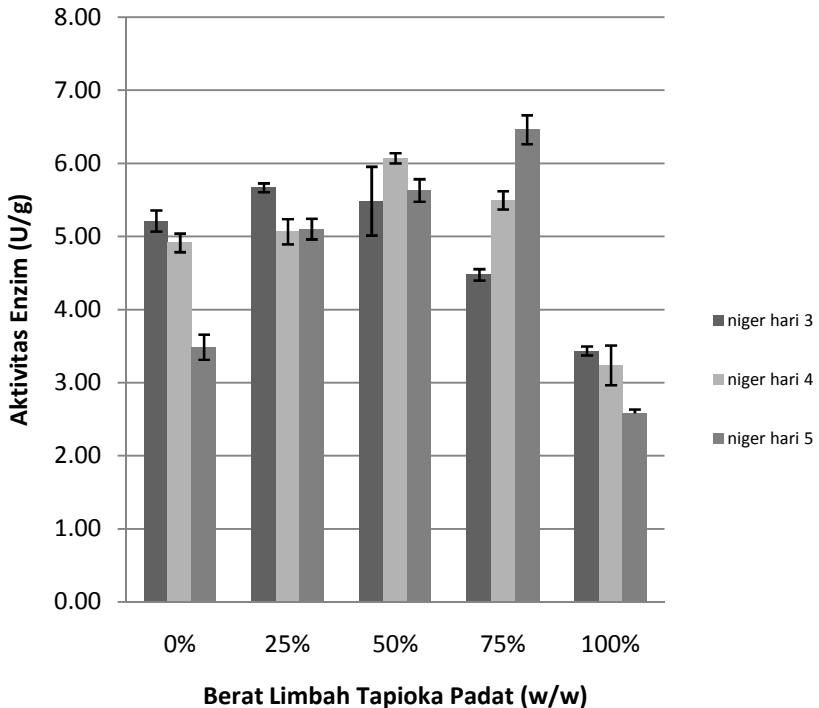


Gambar 4.2 Sampel pengukuran kurva standar gula reduksi

4.2 Pengaruh Penambahan Limbah Tapioka Padat pada Ampas Tahu Sebagai Media Tanam Terhadap Aktivitas Enzim Amilase

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas enzim amilase yang diproduksi oleh fungi *Aspergillus niger* dan *Neurospora crassa* pada penambahan limbah tapioka padat. Adapun persentase limbah tapioka padat yang ditambahkan

dalam masing-masing sampel yaitu 0%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Adapun pengambilan sampel data dilakukan pada hari ke-3, ke-4 dan ke-5.



Gambar 4.3 Pengaruh penambahan limbah tapioka dan waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim amilase pada *Aspergillus niger*

Pada **Gambar 4.3** menunjukkan pengaruh penambahan limbah tapioka padat terhadap aktivitas enzim amilase oleh *Aspergillus niger*. Secara umum pengaruh aktivivitas enzim bersifat fluktuatif terhadap persentase berat limbah tapioka

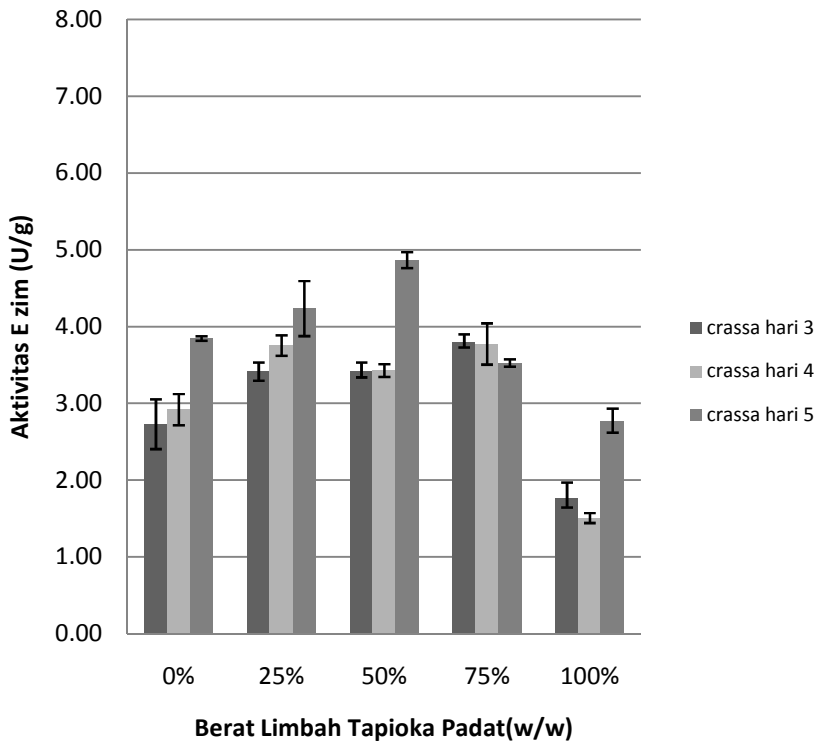
padat yang dikandung sampel. Adapun pembacaan absorbansi dan aktivitas enzim dari masing-masing sampel dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Dapat dilihat pada persentase berat limbah tapioka padat 0% dan 100% mengalami penurunan dihari ke-4 dan ke-5. Hal ini dapat disebabkan oleh sumber nutrisi yang kurang mencukupi. Pada kadar penambahan limbah tapioka padat 0%, fungi mengalami penurunan dari hari ke-3 sebesar 5,21 U/g hingga pada hari ke-5 sebesar 3,48 U/g. Penurunan ini dapat terjadi dikarenakan tidak tersedianya limbah tapioka padat sebagai sumber karbon yang memadai. Sumber karbon sendiri menjadi hal yang penting dimana karbon merupakan unsur utama dalam pembentukan sel. Sebagai mana yang dipaparkan oleh Pommerville (2016), bahwa 26% berat sel terdiri dari komponen organik yang memiliki karbon sebagai elemen dasarnya. Sehingga apabila karbon tidak mencukupi ketersediaannya, fungi tidak dapat memproduksi banyak sel sehingga enzim amilase yang diproduksi pun berkurang. Hal ini juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim amilase yang diproduksi.

Begitu juga sampel dengan kadar limbah tapioka 100% yang mengalami penurunan aktivitas enzim pada hari ke-4 dan ke-5. Aktivitas enzim amilase pada fermentasi hari ke-3 adalah sebesar 6,43 U/g dan terus mengalami penurunan hingga 2,58 U/g pada hari ke-5. Pada sampel ini, fungi tidak dapat tumbuh secara optimal dikarenakan kekurangan ampas tahu yang

berperan sebagai sumber nitrogen pada media tanam. Sumber nitrogen ini merupakan elemen penting dalam pembentukan sel, sintesis asam nukleat serta protein-protein lain yang termasuk kedalamnya ialah enzim (Pommerville, 2016).

Aktivitas enzim tertinggi yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* didapat pada fermentasi hari ke-5 pada kadar penambahan limbah tapioka padat 75%. Hal ini dapat terjadi karena nutrisi yang seimbang dari media tanam yang digunakan. Pada penelitian Putri (2015), juga didapat bahwa perbedaan media fermentasi akan mengakibatkan perbedaan jumlah bandingan media yang sesuai untuk media tanam fungi. Pada penelitiannya diketahui komposisi media yang terbaik untuk produksi enzim amilase adalah 40:60% (b/b) antara *Sargassum* sp. dan gabah padi untuk aktivitas *A. niger* tertinggi yaitu 5,50 U/g. Dan pada hari ke-5 fungi telah memasuki fase logaritmik (*logarithmic growthphase* atau *exponential growth phase*). Dimana pada fase ini, reproduksi dan aktivitas metabolik sel mikrobiologi berada pada puncaknya, serta pada fase inilah populasi mikrobiologi akan terus tumbuh hingga sumber nutrisi habis, produk samping hasil metabolit yang dikeluarkan mikrobiologi dan kontrol terhadap jumlah pembelahan sel (Price dan Frey, 2003).



Gambar 4.4 Pengaruh penambahan limbah tapioka dan waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim amilase pada *Neurospora crassa*

Pada **Gambar 4.4** menunjukkan pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim amilase oleh *Neurospora crassa*. Secara umum waktu fermentasi akan menaikkan aktivitas enzim amilase. Adapun pembacaan absorbansi dan aktivitas enzim dari masing-masing sampel dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Dapat dilihat pada kadar penambahan limbah tapioka padat 0%, 25% dan 50% mengalami kenaikan aktivitas enzim dari hari ke-3 hingga hari ke-5. Pada kadar 0% limbah tapioka padat, diketahui aktivitas enzim amilase naik sebanyak 1,11 U/g dari hari ke-3 hingga hari ke-5. Pada kadar 25% limbah tapioka padat, diketahui aktivitas enzim amilase naik sebanyak 0,82 U/g dari hari ke-3 hingga hari ke-5. Pada kadar 5% limbah tapioka padat, diketahui aktivitas enzim amilase naik signifikan sebanyak 1,44 U/g dari hari ke-3 hingga hari ke-5. Sementara pada kadar penambahan limbah tapioka padat 100% mengalami fluktuasi. Namun pada hari ke-5, aktivitas enzim amilase pada sampel limbah tapioka padat 100% juga mengalami peningkatan. Total peningkatan yang terjadi dari hari ke-3 hingga hari ke-5 pada kadar tapioka 100% sebesar 1,01 U/g. Sementara pada penambahan limbah tapioka padat 75%, aktivitas enzim amilase mengalami penurunan sebanyak 0,28 U/g. Penurunan aktivitas enzim ini dapat terjadi dikarenakan kandungan nutrisi media tanam yang tidak seimbang dan tidak mencukupi kebutuhan tumbuh dari fungi. Sehingga mempengaruhi aktivitas enzim amilase yang diproduksi.

Secara umum, fase logaritmik pada *N. crassa* terjadi pada hari ke-5, dengan aktivitas enzim amilase tertinggi yang dapat diproduksi yaitu 4,86 U/g pada penambahan limbah tapioka padat 50%. Hal ini dapat terjadi karena nutrisi yang seimbang untuk pertumbuhan *N. crassa* dari media tanam yang digunakan. Pada penelitian Dyah (2016), juga didapat bahwa

perbedaan media fermentasi akan mengakibatkan perbedaan jumlah bandingan media yang sesuai untuk media tanam fungi. Pada penelitiannya diketahui komposisi media yang terbaik untuk produksi enzim fitase adalah 30:70% (b/b) antara jerami padi dan ampas tahu untuk aktivitas *N.crassa* tertinggi. Erkmen dan Bozoglu (2016), menyatakan bahwa enzim mikroba memiliki aktivitas optimum pada kondisi tertentu yang mendukung pertumbuhan sel. Mereka juga berpendapat bahwa produksi enzim ekstraselular terjadi pada fase logaritmik maupun stasioner.

4.3 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Aktivitas Enzim Amilase

Pada **Gambar 4.3** dan **Gambar 4.4** juga dapat diketahui bahwa penambahan tapioka, baik pada fermentasi hari ke-3, hari ke-4 maupun hari ke-5, akan meningkatkan aktivitas enzim amilase dari *N. crassa* maupun *A. niger* hingga pada kadar tertentu.

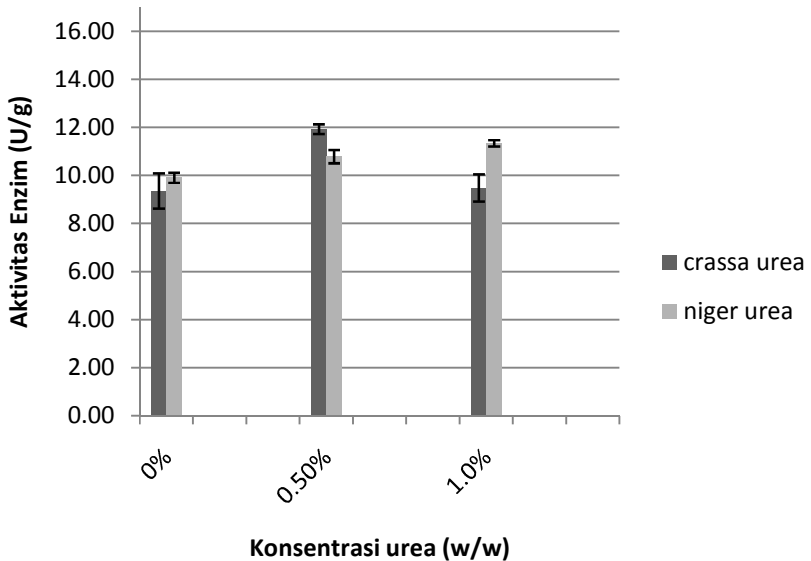
Aktivitas enzim amilase oleh fungi *A. niger* tertinggi pada fermentasi hari ke-3 berada pada kadar penambahan limbah tapioka padat 25% sebesar 5,66 U/g. Pada hari ke-4, aktivitas enzim amilase tertinggi pada kadar penambahan limbah tapioka padat 50% sebesar 6,07 U/g. Sedang pada hari ke-5, aktivitas enzim amilase tertinggi pada kadar penambahan limbah tapioka padat 75% sebesar 6,46 U/g. Aktivitas enzim amilase oleh fungi

N. crassa tertinggi pada fermentasi hari ke-3 berada pada kadar penambahan limbah tapioka padat 75% sebesar 3,80 U/g. Pada hari ke-4, aktivitas enzim amilase tertinggi pada kadar penambahan limbah tapioka padat 25% sebesar 3,75 U/g. Sedang pada hari ke-5, aktivitas enzim amilase tertinggi pada kadar penambahan limbah tapioka padat 50% sebesar 4,86 U/g. Perbedaan kebutuhan nutrisi tiap fungi yang berbeda-beda ini dapat disebabkan karena perbedaan spesies fungi yang digunakan. Perbedaan spesies fungipun dapat memicu laju pertumbuhan fungi yang berbeda. Dimana pada masing-masing fase (lag, log, stasioner dan kematian) memiliki kebutuhan akan nutrisi yang berbeda pula. Kebutuhan nutrisi fungi sendiri dapat mencakup jenis dan nutrisi yang dapat menyokong pertumbuhan ataupun membawa perbedaan, apakah akan digunakan sebagai metabolisme sekunder atau reproduksi struktur (Jennings, 1995).

4.4 Pengaruh Aktivitas Enzim Amilase Terhadap Penambahan Sumber Nitrogen

Dari masing-masing campuran media antara limbah tapioka padat dan ampas tahu terbaik untuk fungi *A. niger* (75% berat limbah tapioka padat) dan *N. crassa* (50% berat limbah tapioka), ditambahkan sumber nitrogen berupa urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) maupun ammonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Penambahan sumber nitrogen ini diharapkan dapat menyediakan kebutuhan nitrogen untuk fungi

dalam pembentukan enzim yang nantinya akan berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas enzim amilase. Adapun pembacaan absorbansi dan aktivitas enzim dari masing-masing sampel dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

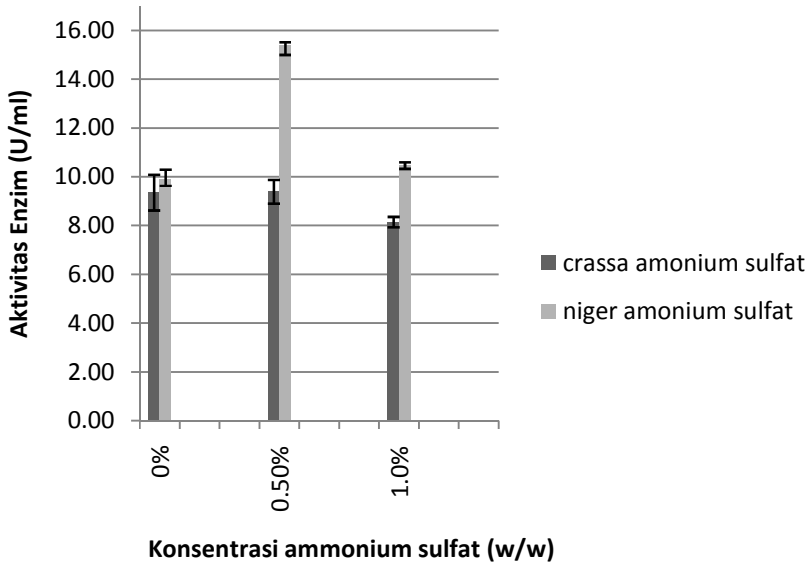


Gambar 4.5 Pengaruh penambahan urea terhadap aktivitas enzim amilase pada *Neurospora crassa* dan *Aspergillus niger*

Gambar 4.5 menunjukkan bahwa penambahan urea pada masing-masing fungi memicu perilaku aktivitas enzim yang berbeda. Pada sampel fungi *N. crassa*, diketahui bahwa penambahan urea terbaik yaitu pada konsentrasi 0,5%. Pada konsentrasi urea 0,5% terjadi peningkatan aktivitas enzim amilase sebanyak 2,58 U/g. Namun apabila konsentrasi urea

ditambahkan hingga 1%, maka aktivitas enzim amilase akan menurun. Hal ini berkesesuaian dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Suribabu *et al.* (2014), dimana mereka melakukan optimasi produksi α -amilase dengan penambahan berbagai macam sumber nitrogen menggunakan *Brevibacillus borstelensis* R1 melalui metode *submerge fermentation*. Pada penelitiannya, pemberian urea dengan konsentrasi 3% (w/v) akan meningkatkan aktivitas enzim amilase ($1301 \pm 0,50$ U/ml), namun apabila konsentrasi urea ditingkatkan hingga 4% atau 5% (w/v) maka secara keseluruhan akan menurunkan aktivitas enzim amilase yang diproduksi. Perilaku yang berbeda ditunjukkan dengan penambahan urea pada fungi *A. niger*, diketahui akan terus meningkatkan aktivitas enzim amilase yang diproduksi. Diketahui bahwa penambahan urea pada sampel *A. niger* hingga konsentrasi 1% akan meningkatkan aktivitas enzim amilase hingga 11,35 U/g. Pada penelitian yang telah dilakukan Pangesti *et al* (2012), mengenai pengaruh produksi enzim xilase dengan penambahan molase oleh *A. niger* dengan menggunakan media jerami padi. Pada penelitiannya digunakan urea 1% sebagai sumber nitrogen sehingga pertumbuhan sel fungi dapat berlangsung lebih cepat dan produksi enzim akan lebih cepat. Namun dalam penelitiannya juga dikatakan bahwa penggunaan urea berlebih dapat menyebabkan pH media meningkat karena urea sebagai nitrogen organik akan mengalami hidrolisis sehingga melepaskan amonia dan karbon

dioksida. Hal ini juga menjadi salah satu alasan menurunnya aktivitas enzim amilase sampel *N. crassa* pada konsentrasi 1%.



Gambar 4.6 Pengaruh penambahan amonium sulfat terhadap aktivitas enzim amilase pada *Neurospora crassa* dan *Aspergillus niger*

Gambar 4.6 menunjukkan bahwa penambahan amonium sulfat pada masing-masing fungi akan menurunkan aktivitas enzim amilase pada konsentrasi 0,5%. Secara keseluruhan penambahan amonium sulfat hingga konsentrasi 0,5% pada kedua fungi akan meningkatkan aktivitas enzim amilase. Penambahan amonium sulfat pada sampel fungi *N. crassa* hingga 0,5% akan meningkatkan aktivitas amilase sebanyak 0,03 U/g. Sedangkan penambahan amonium sulfat pada sampel

fungi *A. niger* secara signifikan akan meningkatkan aktivitas amilase sebanyak 5,48 U/g. Namun apabila konsentrasi amonium sulfat ditingkatkan hingga 0,1% maka aktivitas enzim pada kedua sampel fungi akan mengalami penurunan. Hal tersebut juga berkesesuaian dengan hasil penelitian dari Suribabu *et al.* (2014), dimana mereka melakukan optimasi produksi α -amilase dengan penambahan berbagai macam sumber nitrogen menggunakan *Brevibacillus borstelensis* R1 melalui metode submerge. Dari penelitiannya pemberian amonium sulfat yang terbaik yaitu 1% (w/v) ($1982 \pm 1,50$ U/ml), namun apabila ditingkatkan 2, 3, 4 maupun 5% (w/v) aktivitas enzim amilase secara umum akan menurun. Penambahan amonium sulfat ini dimaksudkan agar terpenuhinya sumber nitrogen yang menyokong pertumbuhan dari fungi. Fungi akan mengambil nitrogen dan sedikit sulfat dari amonium sulfat yang diberikan. Sulfat yang terlalu banyak dan menumpuk ini akan menurunkan pH. Pada penelitian yang telah dilakukan Sidarta *et al.* (2012), mengenai aktivitas amilase dari proses fermentasi umbi kayu dengan penambahan amonium sulfat dan fosfat oleh *A. niger* akan menurunkan pH dikarenakan proses fermentasi dan penumpukan sulfat yang berlebih.

Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa aktivitas enzim amilase tertinggi yang diproduksi oleh *A. niger*, yaitu 15,39 U/g, didapat pada penambahan amonium sulfat sebanyak 0,5%. Sedangkan aktivitas enzim amilase tertinggi yang diproduksi oleh *N. crassa*, yaitu 11,94 U/g, didapat pada

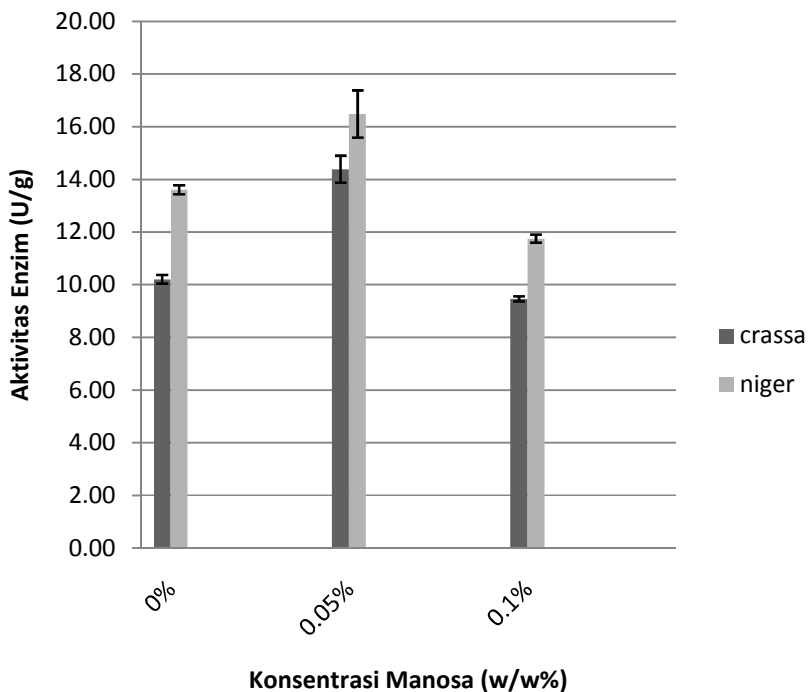
penambahan urea sebanyak 0.5%. Hal ini dapat terjadi dikarenakan perbedaan kebutuhan nitrogen yang berbeda pada tiap fungi. Hal ini sesuai dengan pendapat Juwon dan Emmanuel (2012), dimana mereka menyimpulkan bahwa dari berbagai penelitian mengenai dampak penambahan karbon dan nitrogen, tidak semua sumber karbon dan nitrogen dapat berperan sebagai pemicu produksi enzim pada sistem fermentasi tunggal. Sehingga dalam produksi enzim amilase pada tiap fungi akan memiliki perbedaan jenis sumber nitrogen maupun kadar sumber nitrogen yang dibutuhkan.

Dalam penelitian ini juga diketahui bahwa kelebihan akan sumber nitrogen juga dapat menurunkan pH dari media sehingga dapat menghambat pertumbuhan masing-masing fungi. pH sendiri merupakan salah satu kondisi yang dapat mempengaruhi baik produksi maupun kinerja enzim. pH optimal untuk kebanyakan enzim bekerja yaitu mendekati netral (6-7). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Dyah (2016) dan Saleem dan Ebrahim (2013), pH optimal untuk produksi fitase dari *N.crassa* dan amilase dari *A.niger* adalah 6.

4.5 Pengaruh Penambahan Sumber Karbon Terhadap Aktivitas Enzim Amilase

Dari campuran media terbaik antara limbah tapioka padat dan ampas tahu yang telah ditambahkan sumber nitrogen berupa urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) maupun ammonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)

untuk fungi *A. niger* (75% berat limbah tapioka padat dengan penambahan amonium sulfat 0,5%) dan *N. crassa* (50% berat limbah tapioka dengan penambahan urea 0,5%), kemudian ditambahkan manosa dengan konsentrasi 0%, 0,05% dan 0,1%. Penambahan sumber karbon ini diharapkan dapat menyediakan kebutuhan sumber karbon untuk fungi dalam pembentukan enzim yang nantinya akan berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas enzim amilase.



Gambar 4.7 Pengaruh penambahan manosa terhadap aktivitas enzim amilase pada *Neurospora crassa* dan *Aspergillus niger*

Gambar 4.7 menunjukkan bahwa efek pemberian manosa dengan variasi konsentrasi 0%; 0,05% dan 0,1% berpengaruh terhadap aktivitas enzim amilase yang diproduksi. Pemberian manosa dengan kadar 0,05% akan meningkatkan aktivitas enzim amilase. Pemberian manosa dengan konsentrasi 0,05% sebagai sumber karbon akan menaikkan aktivitas enzim amilase hingga 16,48 U/g pada fungi *A. niger* dan 14,38 U/g pada fungi *N. crassa*. Namun apabila kadar manosa

ditingkatkan hingga 0,1%, maka aktivitas enzim amilase akan mengalami penurunan.

Kenaikan aktivitas enzim amilase ini dapat terjadi dikarenakan manosa berperan sebagai stimulator dalam pembentukan enzim amilase. Menurut Takagi *et al.* dalam Boyer (1971), kebanyakan ikatan manosa diasumsikan sebagai α -glikosidik karena α -manosidase membebaskan semua residu manosa diglikopeptida. Takagi juga menjelaskan bahwa taka amilase mengandung karbohidrat sebanyak 8 molekul manosa, 1 molekul silosa dan 2 molekul heksosamin per molekul enzim. Molekul α -amilase yang disekresi dari jaringan sekutelar dari gabah padi mengandung ikatan oligosakarida asparagin yang mencakup struktur tipe kompleks (termodifikasi) dan tipe struktur tinggi manosa (Mitsui *et al.*, 1985). Namun apabila konsentrasi manosa terlalu berlebih pada fungi maka akan dapat menghambat aktivitas enzim amilase. Diperkirakan manosa yang lebih akan terhidrogenerasi maupun berikatan dengan galaktosa berubah menjadi manitol. Dimana manitol ini merupakan golongan dari polifenol. Menurut Samudra *et al* (2015), polifenol memiliki efek penghambatan terhadap enzim α -amilase melalui ikatan hidroksilasi dan substitusi pada cincin β yang mengakibatkan gagalanya proses pemecahan karbohidrat menjadi bentuk monosakarida.

4.6 Penelitian Terdahulu

Penelitian-penelitian mengenai produksi enzim amilase dengan berbagai jenis media fermentasi, stimulan maupun fungi telah banyak dilakukan. Namun penelitian mengenai enzim amilase masih terus dilakukan untuk mengetahui tingkat keefektifitasan dari berbagai campuran bahan, stimulan maupun fungi-fungi hingga didapat formulasi yang paling optimal. Berikut perbandingan secara umum dengan penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti.

Tabel 4.2 Penelitian Terdahulu

Peneliti	Bahan	Aktivitas enzim	Mikrobiologi	Keterangan
Putri (2015)	Gabah dan <i>Sargassum</i> sp.	<i>A.niger</i> : 25 U/g <i>N. crassa</i> : 10,76 U/g	<i>A. niger</i> dan <i>N. crassa</i>	Suhu terbaik 30 ⁰ C
Kumar et al. (2014)	Kulit jeruk nipis	90 U/ml/min	<i>Aspergillus niger</i>	
Asad et al. (2001)	Sisa roti (1,5%)	21,20 IU/ml/min	<i>Aspergillus niger</i>	Penambahan amonium sulfat (0,2%)
Nisa et al.(2013)		5,7 Unit/mg protein	<i>Aspergillus niger</i>	Penambahan 3 fraksi amonium sulfat (40-60%)

Nwagu dan Okolo (2011)		856 U/ml	<i>Fusarium</i> sp.	Penambahan manosa
Saalem dan Ebrahim (2013)	Kacang Legume	2.75 µg/50ml	<i>Aspergillus niger</i>	Penambahan amonium sulfat 0.3% pH 6 Suhu 30 ⁰ C
Murthy et al.(2009)	Limbah kopi	7084 U g ⁻¹ ds	<i>N. crassa</i>	Fermentasi 5 hari
Indrastuti (2016)	Ampas tahu dan Limbah tapioka Padat	<i>A.niger</i> :16,48 U/g <i>N. crassa</i> : 14,31 U/g	<i>A. niger</i> dan <i>N. crassa</i>	Fermentasi 5 hari, Penambahan amonium sulfat, urea dan manosa

Enzim amilase yang dapat diproduksi oleh *Neurospora crassa* pada penelitian ini tergolong lebih tinggi jika dibandingkan dengan enzim amilase yang diproduksi oleh Putri (2015). Namun produksi enzim amilase oleh *Aspergillus niger* pada penelitian yg telah dilakukan masih dibawah penelitian yang ia lakukan. Pada penelitiannya diteliti produksi enzim amilase, selulase dan fitase dari gabah dan *Sargassum* sp. dengan menggunakan fungi *A. niger* dan *N. crassa*. Dari penelitiannya diketahui suhu optimal untuk fermentasi produksi ke-3 enzim yaitu 30⁰C. Selain itu dari penelitiannya juga

diketahui bahwa penambahan urea akan meningkatkan aktivitas enzim amilase hingga 25 U/g untuk *A. niger* dan 10,76 U/g untuk *N. crassa*. Hal ini membuktikan bahwa penambahan limbah tapioka padat sebanyak 50% pada ampas tahu dengan penambahan urea 0,5% serta manosa 0,05% sebagai media pertumbuhan fungi lebih efektif dibandingkan Gabah dan *Sargassum sp.* dengan penambahan urea 0,5%.

Penggunaan *Neurospora crassa* dalam produksi enzim amilase sendiri telah diteliti oleh Murthy *et al* (2009). Dimana dalam penelitian digunakan limbah kopi sebagai media tumbuh *N. crassa*. Fermentasi sendiri dilakukan selama 5 hari. Adapun aktivitas α -amilase tertinggi yang dapat diperoleh dengan perlakuan *steam* pada limbah kopi yaitu 7084 U g⁻¹ ds (*unit per gram of dry substrate*).

Produksi enzim α -amilase oleh *Aspergillus niger* sebelumnya telah dilakukan oleh Kumar *et al.* (2014), dimana dalam memproduksi enzim amilase ini digunakan kulit jeruk nipis kering yang diinkubasi selama 4 hari didapat enzim amilase dengan aktivitas sebesar 90 Unit/mL/min. Produksi enzim α -amilase oleh *Aspergillus niger* lainnya juga telah dilakukan oleh Asad *et al.* (2001), dimana diketahui bahwa *A.niger* dapat memproduksi α -amilase maksimal pada media sisa roti (1,5%) dengan penambahan 0,2% (NH₄)₂SO₄ yaitu sebesar 21,20 IU/ml/min. Jika dibandingkan dengan literatur yang ada, terlihat bahwa produksi enzim amilase melalui fermentasi *A. niger* pada 75% limbah tapioka padat pada ampas tahu dengan

penambahan 0,5% amonium sulfat serta 0,05% manosa masih kurang efektif dibanding penggunaan substrat-substrat lainnya. Hal ini dapat terjadi dikarenakan perbedaan kandungan nutrisi pada masing-masing bahan. Namun jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nisa *et al.* (2013) maupun Saleem dan Ibrahim (2013), dimana α -amilase tertinggi yang didapat dari isolat kapang *A. niger* pada fraksi 3 amonium sulfat (40–60%) memiliki aktivitas spesifik tertinggi sebesar 5,7 Unit/mg protein untuk penelitian Nisa dan amilase tertinggi yang diproduksi oleh *A. niger* dengan penambahan ammonium sulfat sebesar 2,75 $\mu\text{g}/50\text{mL}$. untuk Saleem dan Ibrahim (2013), penelitian ini masih menghasilkan amilase dengan aktivitas yang cukup tinggi. Dari penelitiannya juga diketahui bahwa amonium sulfat merupakan suplementasi nitrogen yang sesuai untuk pertumbuhan fungi *A. niger*.

Hasil penelitian ini memang masih jauh dari penelitian yang dilakukan oleh Nwagu dan Okolo (2011). Dimana dari penelitiannya diketahui bahwa penambahan manosa pada produksi amilase ekstraseluler dari *Fusarium sp.* yang diisolasi dari tanah Nigeria bagian timur akan menghasilkan amilase dengan aktivitas enzim sebesar 856 U/mL. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan fungi yang digunakan. *Fusarium sp.* sendiri merupakan jamur patogenik yang menyebabkan penyakit layu pada berbagai tanaman (Sulastry, 2011). *Fusarium sp.* juga merupakan jamur yang tergolong aktif dan sangat mudah untuk mengontaminasi karena dipengaruhi berbagai faktor antara lain

angin, suhu, kelembapan udara, pH dan manusia (Prasetyo, 2015). Sehingga penggunaan *Fusarium sp.* perlu dipertimbangkan dengan seksama. Apabila *Fusarium sp.* digunakan proses produksi amilase, sangat dibutuhkan pengawasan yang cukup ketat agar tidak menyebabkan kontaminasi. Sehingga penggunaan fungi, baik *A. niger* maupun *N. crassa*, lebih diminati karena aman dan termasuk kedalam golongan fungi GRAS (Generally Recognize As Safe).

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut ini.

1. Waktu fermentasi terbaik pada suhu 30°C kedua fungi adalah 5 hari. Dengan aktivitas enzim amilase tertinggi yang dapat diproduksi oleh *Aspergillus niger* adalah 6,46 U/g pada 75% berat limbah tapioka padat. Sedang aktivitas enzim amilase tertinggi yang dapat diproduksi oleh *Neurospora crassa* adalah 4,86 U/g pada 50% berat limbah tapioka padat.
2. Penambahan sumber nitrogen terbaik untuk *A. niger* adalah amonium sulfat dengan konsentrasi 0,5% akan meningkatkan aktivitas enzim amilase hingga 15,39 U/g. Sedangkan penambahan sumber nitrogen terbaik untuk *N. crassa* adalah urea dengan konsentrasi 0,5% akan meningkatkan aktivitas enzim amilase hingga 11,94 U/g.
3. Penambahan manosa dengan konsentrasi 0,05% akan meningkatkan aktivitas enzim kedua fungi hingga 14,38 U/g untuk *N. crassa* dan 16,48 U/g untuk *A. niger*.

5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan agar dilakukan optimasi untuk persentase berat limbah tapioka pada media, sumber nitrogen dan sumber karbon yang ditambahkan. Parameter seperti suhu, pH, dan lainnya juga diharapkan diukur pada saat pengujian. Selain itu disarankan agar memperbanyak jenis sumber nitrogen dan sumber karbon yang akan diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiyer, P. V. 2005. Amylases and Their Applications. African J. of Biotechnology. Vo.4 (13): 1525-1529 ISSN: 1684-5315. Academic Journals
- Akcan, N. 2011. High Level Production of Extracellular α -Amylase from *Bacillus licheniformis* ATCC 12759 in Submerged Fermentation. Romanian Biotechnological Letters. 16(6): 6833-6840
- Alina, C., Popa V., Macocian E., Filip S. 2012. Spectrophotometric Studies About Amylase Activity in Strach Hydrolysis Reaction. Internal Report A new Method and System for Real Time Fermentation Process Monitoring HURO 1001/121/2.2.2. Cross-Border Co-operation
- Asad, M. Javed, M. Asghar, M. A Sheikh, J. I. Sultan. 2001. Production of α -Amylase by *Aspergillus niger* and It's Partial Purification. Pak. J. Agri. Sci. 38(3-4). p: 1-4
- Asri W., Rani, Heni M, Fatwa I. W., M. Noorcahaya E. S., Wasilah. 2009. Pemanfaatan Jamur *Neurospora crassa* dalam Pembuatan Rangen Kukus Guna Peningkatan Gizi dan Kesejahteraan Masyarakat. PELITA. IV(I): 25-35

- Atika, Rizka D., Arinda D. A. 2011. Pengaruh Konsentrasi Asam Sulfat pada Hidrolisa Asam Dalam Pembuatan Etanol dari Onggok (Limbah Padat Tepung Tapioka). Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya
- Banerjee, U.C., Y. Chisti, M. Moo-Young. 1995. Effects of Substrate Particle Size and Alkaline Pretreatment On Protein Enrichment by *Neurospora sitophilla*. Resource, Conservation and Recycling. 13 (1995) 139-146. Elsevier
- Bedan, D. S., Ghani M. Aziz, Ali J. R. Al-Sa'ady. 2014. Optimum condition for α -amylase production by *Aspergillus niger* mutant isolate using solid state fermentation. 2(4): 450-456. ISSN: 2320-2246
- Bourdichon, F., Serge C., Choreh F., Jens C. F., Monica L. G., Walter P. H., James H., Geert H., Svend L., Arthur O., Ian B. P., Jashbhai B. P., Yasuyuki S., Eelko T. S., Aart V. B., Vanessa V., Annabelle Z., Sandra T., Egon B. H. 2012. Food fermentation: Microorganisms with Technological Benefical Use. Vol 154 (3): 87-97. Elsevier
- Campbell, N. A., Jane B. R., Lawrence G. M. 2002. Biologi (alih bahasa: Rahayu Lestari). Erlangga. Jakarta

- Ceha, R., Rosad M. E. H. 2011. Pemanfaatan Limbah Ampas Tahu Sebagai Bahan Baku Proses Produksi Kerupuk Pengganti Tepung Tapioka. Prosiding SNaPP2011 Sains, Teknologi dan Kesehatan. Vol.2 (1): 173-180. ISSN: 2089-3582
- Choi, J. M., S. S. Han, H. S. Kim. 2015. Industrial Applications of Enzyme Biocatalysis: Current Status and Future Aspects. JBA-06909: 1-12. Elsevier
- Damayanti, A., Joni H., Ali M. 2004. Analisis Resiko Lingkungan dari Pengolahan Limbah Pabrik Tahu dengan Kayu Apu (*Pistia stratiotes L.*). J. Purifikasi. Vol. 5 (4): 151-156
- Diano, A. Physiology of *Aspergillus niger* under oxygen limitation (Thesis). Technical Univeristy of Denmark. Denmark
- Dijksterhuis, J., Robert A. S. 2007. Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food. CRC Press. Boca Raton
- Dutta, T. Kr., Malabendu J., Priti R. P., Tanmay B. 2006. The Effect of Temperature, pH, and Salt on Amylase in *Heliodiaptomus viduus* (Gurney) (Crustacea: Copepoda: Calanoida). Turkish J. of Zoology. 30 (2006) 187-195

- Dyah, R. P. 2016. Optimasi Produksi Fitase dan Uji Kemampuan Hidrolisisnya pada Pakan Lobster. Skripsi. IPB. Bogor
- Eisenthal, R., Michael J. D. 2002. Enzyme Assays: A Practical Approach. Oxford. New York
- Ekunsaumi, T. 2009. Laboratory Production and Assay of Amylase by Fungi and Bacteria. *Buscar Manuales*, 2: 1-20.
- Ellis, D. 2015. *Aspergillus niger*. (online) [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_\(hyaline\)/AsperAsperg/niger.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/AsperAsperg/niger.html) diakses pada 27 Juni 2016 pukul 9:05 WIB
- Erkmen, O., T. F. Bozoglu. 2016. Food Microbiology: Principles into Practice, 2 Volume Set. John Wiley & Sons, Ltd. Chicester
- Friedlander, M., Michael M.. 1992. Molecular Biology of Receptor and Transporter: Receptor. Academic Press, Inc. San Diego
- Goodsell, David. 2006. Alpha-amylase. (online) <http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=74> diakses pada 27 Juni 2016 pukul 9:04 WIB

- Heryanto, T. E. 2012. Penentuan Aktivitas Amilase Kasar Termofil *Bacillus subtilis* Isolat Gunung Darajat Garut, Jawa Barat. Skripsi. UPI. Bandung
- Indrawati, G. 1999. Pengenalan Kapang Topik Umum. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta
- Jennings, D.H. 1995. The Physiology of Fungal Nutrition. Cambridge University Press. Cambridge
- Juwon, A. D., Ogunmolu F. E. 2012. Experimental Investigation on Effect of Carbon and Nitrogen Source on Concomitant Amylase and Polygalacturonase Production by *Trichoderma viride* BITRS-1001 in Submerged Fermentation. Biotechnology Research International. (2012): 8. 10.1155/2012/904763
- Karnwal, A., Varsha N. 2013. Production of Amylase Enzyme by Isolated Microorganisms and It's Application. Int. J. Pharm. Bio. Sci. Vol 3 (4): 354-360. IJPBS
- Karp, G. 2009. Cell and Molecular Biology. Jhon Wiley&Sons. USA
- Kent, M. 2000. Advanced Biology. Oxford Univerity Press. Malaysia
- Kumar, M. S., Sanjay K. S., G. Neelima, P. Rahini, M.R.K Rao. 2014. Production of amylase from fruit peel using

Aspergillus niger by solid state fermentation. 6(2): 173-177. ISSN: 0975-5071. Scholars Research Library

Kurniati, T. 2012. Detoxification Through Fermentation by Consortium of *Aspergillus niger* and *Neurospora sitophila* Towards The Degree of Forbol Esther and Nutrition Value of *Jatropha Curcas L.* for Broiler's Feed. J. of Asian Scientific Research. 2(6): 317-324. Asian Economis and Social Society

Lestari, P., Nur R., A. A. Darwis, Khaswar S., Untung M. 2011. Purifikasi dan Karakteristik α -amilase Termotabil dari *Bacillus stearothermophilus* TII-12. J. AgroBiogen 7(1):56-65

Maemunah, S. A. Ali S. 2006. Produksi Kultur Rendam Jamur *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae* ITBCCL Sebagai Sumber Enzim Untuk Produksi Bioetanol dari Singkong. J. Teknik Kimia Indonesia. Vol. 5 (1): 350-356

Mandiri. 2015. Pakan Ternak. Industry Update. Ed. April (8). PT Bank Mandiri (Persero)

Marks, D. B., Allan D. M., Colleen M. S. 2000. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis. Alih bahasa: Bram U. EGC. Jakarta

- Mitchell, D. A., N. Krieger, Marin B. 2006. Solid-State Fermentation Bioreactors: Fundamentals of Design and Operation. Springer. Heidelberg.
- Mitsui, T., Akazawa T., Christeller J.T., Tartakoff A.M. 1985. Biosynthesis of rice seed alpha-amylase: two pathways of amylase secretion by the scutellum. J. of Arch Biochem Biophys. 241(1):315-28. US National Library of Medicine National Institutes of Health
- Murthy, P. S., M. Madhava N., Pullabhatla S. 2009. Production of α -amylase under solid-state fermentation utilizing coffee waste. J. of Chemical Technology and Biotechnology. Vol. 84 (8) pp: 1246-1249. Jhon Wiley and Sons, Inc.
- Nangin, D., Aji S. 2015. Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah dari Mikroba: Kajian Pustaka (Review). J. Pangan dan Agroindustri. 3 (3): 1032-1039. UB Press
- Nisa, K., Wuryati, Taslimah. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Amobilisasi α -amilase dari *Aspergillus niger* FNCC 6018. 1(1): 141-149. Chem Info
- Noverina, N., Tina H., Dinda Y., Annisa S., Kantilah N., Tidi D., Atun B., Mansyur. 2008. Evaluasi Nilai Nutrisi Tongkol Jagung Hasil Bioproses Kapang *Neurospora sitophila* Dengan Suplementasi Sulfur dan Nitrogen. J.

Ilmu Ternak. Vol. 8, No.1: 35-42. Universitas Padjadjaran

Novianti, T., Wignyanto, Irnia N.. 2012. Optimasi Produksi Penghasil β -Karotan dari Kapang *Neurospora sitophila* Menggunakan Metode Permukaan Respon. J. Tek. Pert. Vol.5 No.2: 64-75

Noziere, P., W. Steinberg, M. Silberberg, D. P. Morgavi. 2014. Amylase addition increases starch ruminal digestion. J. Dairy Sci. 97 (4): 1-10. American Dairy Science Association

Nuraini, S., Suslina A. L. 2009. Improving the Quality of Tapioca by Product Through Fermentation by *Neurospora crassa* to Produce Carotene Rich Feed. Pakistan J. of Nutrition. 8(4): 487-4990 ISSN: 1680-5194. Asian Network for Science Information

Nwagu, Tochukwu N., B. N. Okolo. 2011. Extracellular amylase production of a thermotolerant *Fusarium sp.* isolated from Eastern Nigerian soil. Braz. Arch. Biol. Technol. 54(4). ISSN: 1516-8913

Ong, L. G. A., S. Abd-Aziz, S. Noraini, M. I. A. Karim, M. A. Hassan. 2004. Enzyme Production and Profile by *Aspergillus niger* During Solid Substrate Fermentation Using Palm Kernel Cake as Substrate. App

Biochemistry and Biotechnology Vol. 118 (2004) pp. 73-79. Springer Link. Malaysia

Pandey, A. 2003. Solid-state Fermentation. J. Biochemical Engineering. 13 (2003):81-84. Elsevier

Pangesti, N. Wahyu I., Artinni P., Estu R. N. 2012. Pengaruh Penambahan Molase pada Produksi Enzim Xilanase oleh Fungi *Aspergillus niger* dengan Substrat Jerami Padi. J. Bioteknologi. 9 (2): 41-48. ISSN: 0216-6887

Perkins, D. D, Rowland H. D. 2000. Evidence for Safety of *Neurospora* Species for Academic and Commercial Uses. Applied and Environmental Microbiology. 66(12): 5107-5109 ISSN:0099-2240. American Society for Microbiology

Pommerville, Jeffrey C. 2016. Fundamentals of Microbiology: Body Systems Edition. Jones & Bartlett Learning. USA

Prasetyo, A. D. 2015. Karakterisasi Biologi Isolat-Isolat *Fusarium* Asal Tanaman Solanaceae di Karanglo, Tawangmangu. Skripsi. UNS. Solo

Price, P., K. B. Frey. 2003. Microbiology for Surgical Technologists. Delmar Learning. New York

Pudyaatmaka, A. Hadyana. 2002. Kamus Kimia. Balai Pustaka. Jakarta

- Putri, R. S. 2015. Produksi Selulase, Amilase, dan Fitase dari Substrat Ganggang Coklat (*Sargassum* sp.) dan Gabah Padi (*Oryza sativa*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ramadhan, E. 2015. Produksi Ezim Selulase Menggunakan Mikrofungi *Mucorcircinelloides*, *Rhizopous oryzae*, dan *Aspergillus niger* pada Substrat Limbah Padat Tapioka (Onggok), Serbuk Jerami, Dedak dan Campuran. Skripsi. Universitas Brawijaya
- Rasjidi, M. S. 2009. Pengaruh Penggantian Konsentrat Nutrifeed Dengan Ampas Tahu Fermentasi Terhadap Nilai Cerna Ransum Domba Lokal Jantan. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Rinku, S., Liji T. R. C., P. Suganyadevi. 2012. Amylase Production by *Aspergillus niger* Under Submerged Fermentation Using *Ipomoea batatas*. International Jurnal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. Vol. 3. Issue 2. ISSN: 0976-4450
- Robinson, J. W., Eileen S. F., George M. F. 2014. Undergraduate Instrumental Analysis, Seventh Edition. CRC Press. Boca Raton

- Rosningsih, S. 2014. Evaluasi Nilai Nutrisi Onggok Hasil Fermentasi Sebagai Bahan Pakan Ternak Unggas. J. AgriSains (18). Universitas Mercu Buana. Yogyakarta
- Saleem, A., Mohsen K.H. Ebrahim. 2013. Production of amylase by fungi isolated from legume seed collected in Almadina Almunawwarah, Saudi Arabia. J. of Taibah University for Science. 8 (2014) 90-97. Elsevier
- Samudra, A. G., Agung E. N., Amir H. 2015. Aktivitas Inhibisi α -Amilase Ekstrak Karagenan dan Senyawa Polifenol dari *Eucheuma denticulatum*. J. Media Farmasi. 12 (1): 93-92
- Sari, M., Warji, Dwi D. N., Tamrin. 2013. Mempelajari Karakteristik Tepung Onggok Pada Tiga Metode Pengeringan yang Berbeda. J. Tek. Pert. Lampung. Vol 2 (1): 43-48
- Schuster, E., N. Dunn-Coleman, J. C. Frisvard, P. W. M. van Dicjk. 2002. On the safety of *Aspergillus niger*—a review. Appl Microbiol Biotechnol (2002) 59:426—435. Springer
- Sciencelab. 2005. Ammonium sulfate MSDS. (online) ScienceLab.com diakses pada 29 April 2016 pukul 12:08 WIB

- Sciencelab. 2005. Urea MSDS. (online) ScienceLab.com diakses pada 29 April 2016 pukul 11:56 WIB
- Sianturi, Krisma Y. 2012. Skripsi: Pra Rancangan Pabrik Pembuatan Pupuk Amonium Sulfat Dari Gypsum Sintetik Hasil Pengolahan Unit Flue Gas Desulfurization PLTU dengan Kapasitas 30.000 Ton/Tahun. Universitas Sumatera Utara
- Sidarta, E., Dwi A. S., Fandy D. 2012. Nilai Kadar Protein dan Aktivitas Amilase Selama Proses Fermentasi Umbi Kayu dengan *Aspergillus niger*. Karya tulis ilmiah. UMM
- Singh, A., Prashant M. 1995. Microbial Pentose Utilization: Current Application in Biotechnology. Elsevier Science. Netherlands
- Suciati, V. 2013. Pengrajin Tahu Berlatih Manfaatkan Ampas Tahu. (online) inilahkoran.com diakses pada 27 Juni 2016 pukul 9:05 WIB
- Sulastry, S. 2011. Penggunaan Jamur Antagonis *Gliocladium virens* Miller untuk Menghambat Pertumbuhan Penyakit *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflora* pada Pembibitan Markisa di Rumah Kaca. Skripsi. USU. Medan

- Suprpti, L. 2005. Teknologi Pengolahan Pangan: Pembuatan Tahu. Kanisius. Yogyakarta
- Suribabu, K., T. Lalitha Govardhan, K. P. J. Hemalatha. 2014. Optimization of Various Nitrogen Sources for the Production of α -Amylase Using *Brevibacillus borstelensis* R1 by Submerged Fermentation. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 3(4): 791-800
- Takagi, Toshio, Hiroko Toda, Toshizo Isemura dalam Paul D. Boyer. 1971. The Enzymes, Vol 5. Academic Pres, Inc. (London) Ltd. USA
- Tangenjaya, B., Purwadaria T., Thenawijaya M., I.W.R. Susana, Malikha I., Haryati T. 1996. Produksi dan Evaluasi Enzim Amilase, Mananase, Phytase dan Protease untuk Meningkatkan Gizi Pakan Monogastrik. Balai Penelitian Ternak. Bogor
- Tavano, O. L., Benevides C. C., Antonio J. G., Roberto F. L., Jose M. G., Rubens M. 2008. Stabilization of an Amylase from *Neurospora crassa* by Immobilization on Highly Activated Supports. J. Food Biotechnology. Vol 22 (3) pp:262-275. ISSN: 0890-5436. AGRIS
- Thomas, L., Chistian L., Ashok P. 2013. Current Development in Solid-State Fermentation. Biochem Eng J. 81 (2013): 146-161. Elsevier

- Valasyifa, D. 2011. *Aspergillus niger* Sebagai Bioinsektisida Pada Larva Nyamuk *Aedes sp.* (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang
- Wahyuono, R. A., M. Naufal H., Surya A. S. 2015. Feasibility Study on the Production of Bioethanol from Tapioca Solid Waste to Meet the National Demand of Biofuel. *Energy Procedia*. 65 (2015): 324-330. Elsevier
- Yohanista, M., Osfar S., Eko W. 2014. Evaluasi nutrisi campuran onggok dan ampas tahu terfermentasi *Aspergillus niger*, *Rizhopus oligosporus* dan kombinasi sebagai bahan pakan pengganti tepung jagung. *J. Ilmu-Ilmu Peternakan* 24 (2): 72 – 83. ISSN: 0852-3581
- Yulia. 2010. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Inokulum *Aspergillus niger* dan *Neurospora sitophila* Untuk Hidrolisis Tongkol Jagung. Skripsi. IPB. Bogor
- Yulianto, W. A., Dewa M. K. P. 2011. Pengaruh Suhu dan Waktu Terhadap Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit dan Biodegradasi Secara Enzimatis Untuk Produksi Xilosa. *Prosiding Seminar Nasional APTA*, 23-24 November 2011. pp: 26-33. ISBN: 978-979-18918-1-3. UGM. Yogyakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pengukuran Absorbansi Sampel Variasi Komposisi dan Waktu Fermentasi

	berat o n g g o k	jamur	ulangan perl aku an	Absorbansi		(2gt)-go	Konsentrasi (ml/L)	Faktor pengen ceran	Aktivitas (U/ g)	Rerata	STDev
				Blanko	Sampel						
hari 3	0%	niger	1	0.4756	0.5647	0.65380	354.40	4.00	5.25	5.21	0.14
			2	0.6603	0.6625	0.66470	359.85	4.00	5.33		
			3	0.5515	0.5891	0.62670	340.85	4.00	5.05		
		crassa	1	0.4182	0.4608	0.50340	279.20	3.00	3.10	2.73	0.32
			2	0.3824	0.3923	0.40220	228.60	3.00	2.54		
			3	0.3826	0.3926	0.40260	228.80	3.00	2.54		
	25%	niger	1	0.5742	0.6378	0.70140	378.20	4.00	5.60	5.66	0.06
			2	0.5789	0.6444	0.70990	382.45	4.00	5.67		
			3	0.693	0.7054	0.71780	386.40	4.00	5.72		
		crassa	1	0.4517	0.5088	0.56590	310.45	3.00	3.45	3.41	0.12

			2	0.3928	0.464	0.53520	295.10	3.00	3.28		
			3	0.5012	0.5388	0.57640	315.70	3.00	3.51		
	50%	niger	1	0.6046	0.6083	0.61200	333.50	4.00	4.94	5.48	0.47
			2	0.7274	0.7274	0.72740	391.20	4.00	5.80		
			3	0.7136	0.7147	0.71580	385.40	4.00	5.71		
		crassa	1	0.4934	0.5145	0.53560	295.30	3.00	3.28	3.42	0.12
			2	0.469	0.5219	0.57480	314.90	3.00	3.50		
			3	0.4637	0.5162	0.56870	311.85	3.00	3.47		
	75%	niger	1	0.4342	0.49	0.54580	300.40	4.00	4.45	4.48	0.08
			2	0.4222	0.4915	0.56080	307.90	4.00	4.56		
			3	0.5266	0.5337	0.54080	297.90	4.00	4.41		
		crassa	1	0.5591	0.5856	0.61210	333.55	3.00	3.71	3.80	0.10
			2	0.5619	0.6041	0.64630	350.65	3.00	3.90		
			3	0.5889	0.6095	0.63010	342.55	3.00	3.81		
	100%	niger	1	0.3875	0.3932	0.39890	226.95	4.00	3.36	3.43	0.06
			2	0.4066	0.41	0.41340	234.20	4.00	3.47		
			3	0.4077	0.4103	0.41290	233.95	4.00	3.47		
		crassa	1	0.1909	0.2458	0.30070	177.85	3.00	1.98	1.76	0.21
			2	0.1778	0.2185	0.25920	157.10	3.00	1.75		

			3	0.1754	0.2007	0.22600	140.50	3.00	1.56		
hari 4	berat o n g g o k	jamur	ulangan perlakuan	Absorbansi		(2gt)-go	Konsentrasi (ml/L)	Faktor pengenceran	Aktivitas (U/g)	Rerata	STDev
				Blanko	Sampel						
	0%	niger	1	0.6208	0.6243	0.6278	341.40	4.00	5.06	4.91	0.13
			2	0.5092	0.5531	0.5970	326.00	4.00	4.83		
			3	0.5967	0.5979	0.5991	327.05	4.00	4.85		
		crassa	1	0.3761	0.4417	0.5073	281.15	3.00	3.12	2.92	0.20
			2	0.3931	0.4312	0.4693	262.15	3.00	2.91		
			3	0.3915	0.4127	0.4339	244.45	3.00	2.72		
	25%	niger	1	0.464	0.534	0.6040	329.50	4.00	4.88	5.06	0.17
			2	0.436	0.534	0.6320	343.50	4.00	5.09		
			3	0.436	0.543	0.6500	352.50	4.00	5.22		
		crassa	1	0.4662	0.5428	0.6194	337.20	3.00	3.75	3.75	0.13
			2	0.4404	0.5187	0.5970	326.00	3.00	3.62		
			3	0.449	0.5469	0.6448	349.90	3.00	3.89		

	50%	niger	1	0.512	0.6433	0.7746	414.80	4.00	6.15	6.07	0.07
			2	0.6664	0.7114	0.7564	405.70	4.00	6.01		
			3	0.5587	0.6603	0.7619	408.45	4.00	6.05		
		crassa	1	0.3782	0.4767	0.5752	315.10	3.00	3.50	3.43	0.08
			2	0.3795	0.4723	0.5651	310.05	3.00	3.45		
			3	0.4369	0.4911	0.5453	300.15	3.00	3.34		
	75%	niger	1	0.6514	0.6599	0.6684	361.70	4.00	5.36	5.49	0.12
			2	0.61	0.6501	0.6902	372.60	4.00	5.52		
			3	0.6034	0.6523	0.7012	378.10	4.00	5.60		
		crassa	1	0.0646	0.3673	0.6700	362.50	3.00	4.03	3.77	0.27
			2	0.194	0.3837	0.5734	314.20	3.00	3.49		
			3	0.4288	0.5289	0.6290	342.00	3.00	3.80		
	100%	niger	1	0.4108	0.4175	0.4242	239.60	4.00	3.55	3.24	0.27
			2	0.3529	0.3573	0.3617	208.35	4.00	3.09		
			3	0.3533	0.3564	0.3595	207.25	4.00	3.07		
		crassa	1	0.1738	0.197	0.2202	137.60	3.00	1.53	1.51	0.07
			2	0.1725	0.1877	0.2029	128.95	3.00	1.43		
			3	0.174	0.1998	0.2256	140.30	3.00	1.56		
hari 5	berat	jamur	ulangan	Absorbansi		(2gt)-go	Konsentrasi	Faktor	Aktivitas	Rerata	STDev

	o n g g o k		perl aku an	Blanko	Sampel		(ml/L)	pengen ceran	(U/ g)		
	0%	niger	1	0.2805	0.3495	0.4185	236.75	4.00	3.51	3.48	0.17
			2	0.265	0.3374	0.4098	232.40	4.00	3.44		
			3	0.3303	0.3741	0.4179	236.45	4.00	3.50		
		crassa	1	0.5552	0.5945	0.6338	344.40	3.00	3.83	3.84	0.03
			2	0.5638	0.6033	0.6428	348.90	3.00	3.88		
			3	0.5797	0.6066	0.6335	344.25	3.00	3.83		
	25%	niger	1	0.5065	0.5598	0.6131	334.05	4.00	4.95	5.10	0.14
			2	0.5056	0.5782	0.6508	352.90	4.00	5.23		
			3	0.5166	0.5767	0.6368	345.90	4.00	5.12		
		crassa	1	0.5277	0.5804	0.6331	344.05	3.00	3.82	4.23	0.36
			2	0.5753	0.6637	0.7521	403.55	3.00	4.48		
			3	0.3889	0.5627	0.7365	395.75	3.00	4.40		
	50%	niger	1	0.6755	0.687	0.6985	376.75	4.00	5.58	5.63	0.15
			2	0.6851	0.6865	0.6879	371.45	4.00	5.50		

			3	0.7163	0.7222	0.7281	391.55	4.00	5.80	4.86	0.10
		crassa	1	0.5411	0.6741	0.8071	431.05	3.00	4.79		
			2	0.7256	0.769	0.8124	433.70	3.00	4.82		
			3	0.5747	0.7084	0.8421	448.55	3.00	4.98		
	75%	niger	1	0.4318	0.6309	0.8300	442.50	4.00	6.56	6.46	0.20
			2	0.6349	0.7106	0.7863	420.65	4.00	6.23		
			3	0.5946	0.7148	0.8350	445.00	4.00	6.59		
		crassa	1	0.5295	0.5594	0.5893	322.15	3.00	3.58	3.52	0.05
			2	0.5371	0.5557	0.5743	314.65	3.00	3.50		
			3	0.5393	0.5569	0.5745	314.75	3.00	3.50		
	100%	niger	1	0.187	0.2385	0.2900	172.50	4.00	2.56	2.58	0.05
			2	0.2544	0.2714	0.2884	171.70	4.00	2.54		
			3	0.2615	0.2815	0.3015	178.25	4.00	2.64		
		crassa	1	0.2899	0.3547	0.4195	237.25	3.00	2.64	2.77	0.16
			2	0.4225	0.4487	0.4749	264.95	3.00	2.94		
			3	0.4073	0.4228	0.4383	246.65	3.00	2.74		

Contoh perhitungan aktivitas enzim amilase dengan *A. niger* pada hari ke-3 dengan penambahan limbah ongkok 0% ulangan

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi gula reduksi dalam sampel } \left(\frac{mg}{L}\right) &= \frac{[(2gt) - go] + 0,055}{0,002} \\ &= \frac{[(2 \times 0,5647) - 0,4756] + 0,055}{0,002} = \frac{0,6538 + 0,055}{0,002} = 354,40 \frac{mg}{L} \end{aligned}$$

Aktivitas enzim amilase (U/g)

$$\begin{aligned} &= \frac{[glukosa]mg}{L} \times \frac{1}{BM\left(\frac{\mu g}{\mu mol}\right)} \times \frac{1}{waktu(menit)} \times \frac{VT}{VE} \times 10 \frac{ml \text{ enzim}}{1g \text{ substrat}} \times FP \\ &= 354,50 \frac{mg}{L} \times \frac{1}{180 \frac{\mu g}{\mu mol}} \times \frac{1}{30 \text{ menit}} \times \frac{0,5 \text{ ml}}{0,25 \text{ ml}} \times 10 \frac{ml \text{ enzim}}{1g \text{ substrat}} \times 4 = 5,25 \text{ U/g} \end{aligned}$$

Lampiran 2. Hasil Pengukuran Absorbansi Penambahan Sumber Nitrogen

fungi	sumber nitro- ge- n	massa	ulangan	Absorbansi		(2gt-go)	Konsentrasi (ml/L)	Faktor penge- nceran	Aktivitas (U/ ml)	Rerata	STDev
				s	bs						
Crassa	kontrol	0%	1	0.4174	0.3966	0.4382	246.60	7.00	9.59	9.36	0.73
			2	0.3806	0.3771	0.3841	219.55	7.00	8.54		
			3	0.4506	0.4446	0.4566	255.80	7.00	9.95		
	urea	0.50%	1	0.5486	0.5443	0.5529	303.95	7.00	11.82	11.94	0.20
			2	0.5208	0.4706	0.571	313.00	7.00	12.17		
			3	0.4929	0.4332	0.5526	303.80	7.00	11.81		
		1.0%	1	0.4037	0.3993	0.4081	231.55	7.00	9.00	9.49	0.57
			2	0.4349	0.4048	0.465	260.00	7.00	10.11		
			3	0.3643	0.3032	0.4254	240.20	7.00	9.34		
	amonium sulfat	0.05%	1	0.4285	0.4004	0.4566	255.80	7.00	9.95	9.39	0.49
			2	0.3605	0.3121	0.4089	231.95	7.00	9.02		
			3	0.3704	0.3222	0.4186	236.80	7.00	9.21		
		1.0%	1	0.3167	0.2732	0.3602	207.60	7.00	8.07	8.15	0.21

niger			2	0.3293	0.3026	0.356	205.50	7.00	7.99		
			3	0.3243	0.272	0.3766	215.80	7.00	8.39		
	kontrol	0%	1	0.4144	0.3906	0.4382	246.60	7.00	9.59	9.91	0.28
			2	0.4564	0.4502	0.4626	258.80	7.00	10.06		
			3	0.3978	0.3326	0.463	259.00	7.00	10.07		
	urea	0.05%	1	0.4821	0.4574	0.5068	280.90	7.00	10.92	10.79	0.13
			2	0.4658	0.4385	0.4931	274.05	7.00	10.66		
			3	0.4847	0.4698	0.4996	277.30	7.00	10.78		
		0%	1	0.4735	0.416	0.531	293.00	7.00	11.39	11.35	0.18
			2	0.4949	0.4535	0.5363	295.65	7.00	11.50		
			3	0.4971	0.4761	0.5181	286.55	7.00	11.14		
	Amonium sulfat	0.50%	1	0.6703	0.5828	0.7578	406.40	7.00	15.80	15.39	0.39
			2	0.6664	0.6145	0.7183	386.65	7.00	15.04		
			3	0.6501	0.567	0.7332	394.10	7.00	15.33		
		1.0%	1	0.4901	0.4888	0.4914	273.20	7.00	10.62	10.47	0.14
			2	0.468	0.4546	0.4814	268.20	7.00	10.43		
			3	0.4205	0.3634	0.4776	266.30	7.00	10.36		

Lampiran 3. Hasil Pengukuran Absorbansi Penambahan Sumber Karbon

Fungi	Konsentrasi	ulangan	Absorbansi		2gt-go	konsentrasi (ml/L)	FP	Aktivitas (U/ ml)	Rerata	Stdev
			sampel	blanko						
crassa	0%	1	0.4509	0.4161	0.49	270.31	10.00	10.01	10.20	0.17
		2	0.4774	0.4533	0.50	278.29	10.00	10.31		
		3	0.4999	0.4990	0.50	277.86	10.00	10.29		
	0.05%	1	0.7169	0.6802	0.75	404.28	10.00	14.97	14.38	0.51
		2	0.6972	0.6908	0.70	379.36	10.00	14.05		
		3	0.6994	0.6908	0.71	381.52	10.00	14.13		
	0.1%	1	0.4271	0.4021	0.45	253.59	10.00	9.39	9.46	0.10
		2	0.4522	0.4507	0.45	254.34	10.00	9.42		
		3	0.4360	0.4101	0.46	258.44	10.00	9.57		
niger	0%	1	0.9673	0.9464	0.99	521.63	7.00	13.52	13.60	0.18
		2	1.0012	0.9924	1.01	532.53	7.00	13.81		
		3	0.9490	0.9128	0.99	520.12	7.00	13.48		
	0.05%	1	0.8304	0.8090	0.85	453.35	10.00	16.79	16.48	0.90
		2	0.7339	0.5950	0.87	463.93	10.00	17.18		
		3	0.4610	0.1417	0.78	417.65	10.00	15.47		

	0.1%	1	0.8368	0.8325	0.84	448.07	7.00	11.62	11.75	0.16
		2	0.8364	0.8250	0.85	451.41	7.00	11.70		
		3	0.8222	0.7799	0.86	459.72	7.00	11.92		

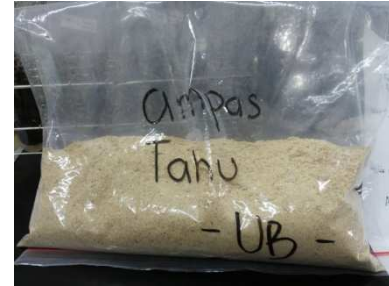
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian



Penghalusan bahan



Pengayakan tepung ongkok (60 mesh)



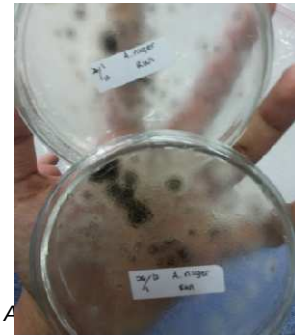
Tepung ampas tahu yang digunakan



Per



am



A

k



Subkultur fungi

Penanaman jamur pada media tanam



Pencarian komposisi media tanam terbaik pada *Neurospora crassa*



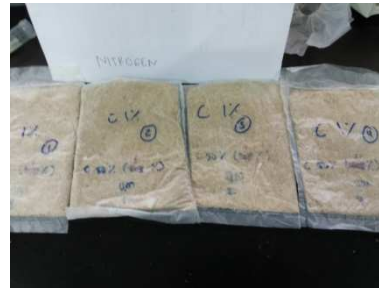
Pencarian komposisi media tanam terbaik pada *Aspergillus niger*



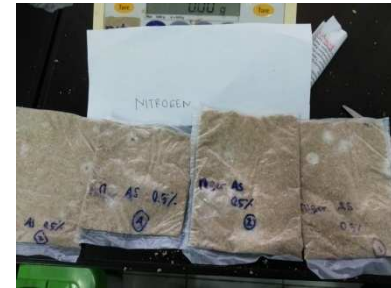
Penambahan amonium sulfat pada *Aspergillus niger*



Penambahan urea pada *Neurospora crassa*



Penambahan manosa pada *Neurospora crassa*



Penambahan manosa pada *Aspergillus niger*



Penimbangan substrat terfermentasi



Ekstraksi enzim



Sentrifugasi dalam proses ekstraksi enzim



Penambahan reagen dalam
pengukuran aktivitas enzim



Pengukuran absorbansi sampel